FACULTÉ DE MÉDECINE DE BROUSSAIS - HOTEL DIEU
UNIVERSITÉ PARIS VI

année 1975

n° 454

thèse
pour le
doctorat en médecine
(diplôme d'état)

par
Sylvie ORGEOLET épouse GIRARD
née le 13 juin 1945 à paris 17e

présentée et soutenue publiquement le

---

diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques
analyse de 125 observations

Président: Monsieur B. SCHRAMM, Professeur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE BROUSSAIS - HOTEL DIEU
UNIVERSITÉ PARIS VI

année 1975 n°

thèse
pour le
doctorat en médecine
(diplôme d'état)

par
Sylvie ORGEOLET épouse GIRARD
née le 13 juin 1945 à paris 17e

présentée et soutenue publiquement le

---

diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques
analyse de 125 observations

Président: Monsieur B. SCHRAMM, Professeur

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monsieur le Professeur Berthold SCHRAMM

qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Il m'a accueillie dans son service et a permis la mise en place du diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques à COCHIN - PORT - ROYAL.

qu'il soit assuré de ma gratitude et de mon respect.

A Madame le Docteur Joëlle BOUE

A Monsieur le Professeur Agrégé André BOUE

qui m'ont fourni le sujet de ce travail. Leur aide a été précieuse lors de la mise au point des techniques et lors de l'organisation du laboratoire de COCHIN - PORT - ROYAL.

En témoignage de ma reconnaissance et de mon amitié.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548127_0028

A Mademoiselle le Docteur Marthe GAUTIER

qui m'a permis de m'initier à la cytogénétique et au travail de laboratoire.

qu'elle veuille bien trouver ici la marque de mon profond attachement.

A Monsieur le Docteur Didier RABINEAU

En remerciement de sa collaboration à ce travail.

Aux gynécologues-obstétriciens qui ont pratiqué les amniocentèses :

Pr. Ag. J. BARRAT
Pr. Ag. J. CHAVINIE
Dr. J. COHEN
Dr. Y. DARBOIS
Pr. R. HENRION
Dr. Jeanine HENRY
Pr. Ag. E. HERVET
Dr. J.P. LEMOINE
Dr. D. LIPSZYC
Dr. V. LOFFREDO
Pr. Ag. J.H. RAVINA
Dr. J.L. ROUVILLOIS
Dr. L. SCHEBAT
Pr. C. SUREAU
Dr. M. TOURNAIRE
Dr. J.R. ZORN

Aux techniciennes et techniciens qui m'ont beaucoup appris dans les techniques de laboratoire et ont collaboré à ce travail.

DIAGNOSTIC PRENATAL

DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

ANALYSE DE 125 OBSERVATIONS

INTRODUCTION

HISTORIQUE

Depuis la première description des chromosomes humains par ARNOLD en 1879, trois grandes étapes ont permis le développement de la cytogénétique humaine. BARR et BERTRAM (6) en 1949 décrivent le corpuscule chromatinien ; TJIO et LEVAN (118) en 1956 ramènent à 46 le nombre des chromosomes humains et ouvrent la voie aux études caryotypiques ; en 1959, LEJEUNE, GAUTIER et TURPIN (70) décrivent la première anomalie chromosomique constitutionnelle : la trisomie 21.

En 1971, la mise au point de techniques d'identification chromosomique (17 - 96 - 108) permet une étude plus précise du caryotype et ouvre un nouveau champ d'investigation en cytogénétique.

Toutes ces techniques, aussi raffinées soient-elles, ont pour seul effet d'expliquer les malformations congénitales d'un enfant déjà né. L'idée d'appliquer ces techniques cytogénétiques au dépistage in utero de ces maladies permet d'envisager une nouvelle voie de recherche en génétique.

L'étude du liquide amniotique par amniocentèse tardive s'est tout d'abord développée depuis le dépistage des formes graves de l'isoimmunisation Rhésus et est maintenant utilisée dans un nombre grandissant d'affections.

Dès 1956, FUCHS et RIIS (35) montrent que l'amniocentèse permet la prédiction anténatale du sexe par l'étude de la chromatine nucléaire. STEELE et BREGG en 1956 (113) obtiennent les premières cultures de cellules amniotiques permettant d'étudier le caryotype foetal. Dès lors, grâce à l'amniocentèse précoce, cette technique

de culture a trouvé tout son intérêt dans le dépistage prénatal des anomalies chromosomiques (THIEDE 1966, JACOBSON 1967, VALENTI 1969) (117 - 61 - 122) puis dans le diagnostic des maladies du métabolisme (NADLER 1968, NELSON 1970) (84 - 92) dès le début du deuxième trimestre de la grossesse.

PRINCIPES DE LA TECHNIQUE

Les principes de la technique sont simples : la poche amniotique qui entoure le foetus est constituée de cellules d'origine foetale. Les cellules trouvées en suspension dans le liquide amniotique proviennent du corps du foetus (peau et muqueuses) et de l'amnios. Ces cellules ont donc la même constitution génétique que le foetus.

La plupart de ces cellules desquamées sont mortes et ce sont les quelques cellules vivantes du liquide amniotique qui permettront la culture cellulaire.

ETUDE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE DANS LE DIAGNOSTIC PRENATAL DES ANOMALIES GENETIQUES

La ponction amniotique précoce permet le diagnostic d'anomalies génétiques dans les cas suivants :

- le diagnostic des anomalies chromosomiques par l'établissement du caryotype foetal après culture des cellules amniotiques : le travail présenté ici se limite à ce type d'indication.

- le diagnostic du sexe dans les maladies dont la transmission est liée au chromosome X.

- le diagnostic des maladies innées du métabolisme. Il s'agit d'un problème beaucoup plus difficile : les études enzymatiques nécessitent un laboratoire entraîné pour chaque type d'anomalie et exigent la connaissance des taux normaux sur de nombreuses souches de cellules amniotiques normales. Il s'agit en règle générale d'affections rares qui ne représenteront donc qu'un petit nombre d'indication de diagnostic prénatal. La grande diversité des affections déjà recensées complique encore le problème.

Le diagnostic de ces maladies innées du métabolisme se fera selon les cas, directement sur le liquide amniotique ou sur les cellules en culture.

- *dans d'autres affections enfin, l'étude du liquide amniotique est d'un appoint précieux. Ainsi, on a pu montrer (1 - 27 - 103) qu'un taux élevé d'alpha-foetoprotéines dans le liquide amniotique était le témoin de malformations du système nerveux avec extériorisation des méninges (anencéphalie, spina-bifida).*

Ainsi, des progrès énormes ont été accomplis depuis 10 ans dans le diagnostic prénatal des maladies héréditaires grâce à l'étude du liquide amniotique permettant une première approche du dépistage et de la prévention des malformations. La voie est ouverte aux recherches dans ce vaste domaine.

Cette étude se limite au diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques. L'étude préliminaire sur des prélèvements d'essai a permis la mise au point des techniques. Ces techniques sont décrites et les indications de l'amniocentèse précoce sont exposées avant l'étude des résultats de 125 diagnostics prénataux. En conclusion, les conditions pratiques d'application de cette méthode d'investigation et son avenir sont envisagés.

ETUDE PRELIMINAIRE

MISE AU POINT DES TECHNIQUES SUR 73 LIQUIDES AMNIOTIQUES PRELEVES DANS UN AUTRE BUT QUE LE DIAGNOSTIC PRENATAL

Le diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques impose des conditions de culture très précises et rigoureusement contrôlées. Il s'agit en effet d'une technique comparable à celle des clonages cellulaires. L'abord de ces problèmes ne pouvait donc se faire que dans un laboratoire spécialisé dans les cultures de cellules.

Dans un premier temps, nous avons profité de l'expérience du laboratoire du Pr BOUE pour sélectionner les conditions de culture et de préparations chromosomiques. Le choix de la technique a été dans tous les cas guidé par le souci de la plus grande simplicité.

Le deuxième temps a consisté, une fois ces problèmes résolus, à réimplanter, pour des raisons géographiques la même technique à COCHIN-PORT ROYAL afin de pouvoir réaliser les premiers diagnostics sur place et dans des conditions de sécurité suffisantes.

MATERIEL

Les échantillons de liquide amniotique provenaient de différents stades de la grossesse de la 10 ème à la 38 ème semaine.

Ils ont été obtenus :

- *soit à partir d'avortements thérapeutiques pour les plus précoces*
- *soit à partir d'amniocentèse tardive pratiquée pour une autre raison.*

LA MISE AU POINT DES TECHNIQUES *s'est effectuée en deux temps :*

- *une première série de 25 prélèvements a été d'abord utilisée pour tester le matériel et choisir le milieu de culture qui paraissait donner les meilleurs résultats.*

- *les 58 échantillons suivants ont tous été étudiés dans les mêmes conditions, l'expérience acquise au cours des manipulations ayant permis d'améliorer progressivement la technique.*

LES RESULTATS DE CETTE ETUDE PRELIMINAIRE

- *l'appréciation de la pousse cellulaire est faite en examinant le nombre d'échecs et de succès des cultures. Le temps de croissance cellulaire est exprimé en délai d'apparition de foyers cellulaires dans au moins deux boites de cultures.*

- *la proportion globale d'échecs pendant cette période de mise au point a été de 14 % (8 échecs sur 58 échantillons) avec un délai moyen de culture de 11,7 jours. Cependant, une analyse plus détaillée montre que les derniers échantillons ont un pourcentage d'échecs moindre et un délai de culture plus rapide.*

- *l'étude des résultats en fonction de l'âge de la grossesse (tableau I) montre que le diagnostic a le plus de chances de succès à partir de la 16 ème semaine. Avant cette date, le pourcentage d'échecs et le délai de culture augmentent notablement.*

Les techniques retenues après cette période de mise au point sont toujours utilisées, sans changement notable, pour le diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques. Ces techniques vont être décrites avant l'étude des résultats de 125 diagnostics prénataux.

TABLEAU I

	< 16 semaines	> 16 semaines	Total
Nombre de cas	14	44	58
Nombre d'échecs	4 (28 %)	4 (9 %)	8 (14 %)
Nombre de succès	10 (72 %)	40 (91 %)	50 (88 %)
Délai de culture moyen, en jours	13,5	10,7	11,7

Résultats des cultures en fonction de l'âge de la grossesse (sur 58 échantillons)

TECHNIQUES

TECHNIQUE DE L'AMNIOCENTESE PRECOCE ET COMPLICATIONS

TECHNIQUE DE CULTURE DES CELLULES AMNIOTIQUES

TECHNIQUES CHROMOSOMIQUES

IMPERATIFS TECHNIQUES ET PROBLEMES DIAGNOSTIQUES

TECHNIQUE DE L'AMNIOCENTESE PRECOCE

La technique de l'amniocentèse précoce ne sera que brièvement décrite (52 - 53). Elle consiste à prélever du liquide amniotique par ponction transabdominale au début du 2 ème trimestre de la grossesse.

DATE DE LA PONCTION :

Le moment optimum se situe à partir de la 16 ème semaine de grossesse calculée à partir du premier jour des dernières règles.

En effet, la grossesse doit être suffisamment avancée :

- *utérus bien développé, en position abdominale*
- *oeuf occupant toute la cavité utérine*
- *placenta bien individualisé*
- *liquide amniotique suffisamment abondant (on a pu évaluer que le volume du liquide amniotique est de 100 à 300 ml à la 16 ème semaine alors qu'il est de 20 à 30 ml à la 8 ème semaine et de 50 à 200 ml à la 24 ème semaine) (32)*
- *foetus mobile dans la cavité amniotique c'est-à-dire flottant dans un liquide assez abondant et relié à un cordon assez long pour pouvoir fuir devant l'aiguille.*

De plus, la culture des cellules amniotiques est d'autant plus aisée que la grossesse est plus avancée (tableau I). En effet, la quantité de cellules foetales et de l'amnios desquamées dans le liquide amniotique augmente avec l'âge de la grossesse et il semble qu'une ponction trop précoce puisse être une cause d'échec de la culture cellulaire.

AVANT LA PONCTION

Un examen clinique minutieux permettra de vérifier l'âge de la grossesse ainsi que son développement anatomique.

Les éléments cliniques, la recherche des bruits du coeur foetal ainsi que les dosages hormonaux urinaires permettront d'éviter une amniocentèse sur un oeuf mort.

La localisation placentaire peut être un appoint précieux avant la ponction. La localisation par les ultra-sons est la technique qui doit être retenue. Elle permet de visualiser l'insertion placentaire et de préciser la profondeur de la poche amniotique. Son utilité a cependant été discutée et certains auteurs ponctionnent avec le même succès sans localisation placentaire préalable.

TECHNIQUE DE LA PONCTION

- *elle sera faite en milieu chirurgical avec la plus stricte asepsie*
- *la voie abdominale est la seule admise par les auteurs. La voie vaginale présente en effet trop de risques infectieux ou d'avortement.*
- *l'anesthésie n'est pas nécessaire. Bien que très souvent attendue avec anxiété par la patiente, la ponction n'est pas douloureuse.*
- *à l'aide d'une aiguille à mandrin, assez longue et de calibre suffisant, on pénètre dans la cavité ovulaire après avoir franchi la paroi abdominale et la paroi utérine. On aspire ensuite à la seringue 10 à 15 ml de liquide amniotique.*
- *le point de ponction, sur la ligne médiane est déterminé après l'examen clinique et la localisation placentaire.*

ACCIDENTS DE LA PONCTION AMNIOTIQUE

Il semble que les accidents de la ponction amniotique, faite par une main expérimentée, soient rares (53). Il est cependant nécessaire de les avoir à l'esprit. L'évaluation du risque de l'amniocentèse doit être l'objet d'une étude prospective non seulement sur l'issue des grossesses mais aussi sur l'état à long terme des enfants.

- *La piqure foetale, théoriquement possible, n'a jamais été prouvée par une lésion visible sur l'embryon*

- *l'hémorragie intra-ovulaire peut se produire si l'aiguille lèse un vaisseau de la plaque choriale. Les risques de ce saignement intra-ovulaire sont peu connus.*

- *les avortements succédant à une ponction sont possibles. Leur fréquence parait cependant basse.*

- *l'immunisation d'une patiente Rhésus négatif portant un foetus Rhésus positif est théoriquement possible s'il y a passage d'hématies foetales dans la circulation maternelle. Le test de KLEIHAUER a montré chez 99 patientes qu'il y avait 13 % de passages allant de 0,25 à 3,75 ml (53). Le test de KLEIHAUER avant et après l'amniocentèse a ici un grand intérêt. Chez les patientes Rhésus négatif, une injection de gammaglobulines anti-D doit être proposée.*

- *l'infection ovulaire est très exceptionnelle. Si ce risque vient à l'esprit, il n'est l'objet d'aucune publication sur les ponctions amniotiques précoces ou tardives.*

Actuellement, on peut dire que les risques maternels sont pratiquement nuls et que les risques pour le foetus sont plus réduits (inférieurs à 1 %) que ceux qui avaient été estimés a priori.

TECHNIQUE DE CULTURE DES CELLULES AMNIOTIQUES

L'analyse du caryotype foetal après ponction amniotique nécessite des techniques de culture cellulaire hautement spécialisées, comparables aux techniques de clonage cellulaire. Le problème est en effet d'obtenir la multiplication in vitro des quelques cellules vivantes desquamées dans le liquide amniotique.

La méthode repose sur deux principes : (12 - 61)

- *la plus grande simplicité possible afin de restreindre au maximum le nombre de manipulations et éviter l'altération des cellules et le risque de contamination bactérienne.*

- *la miniaturisation des techniques en utilisant des boites de culture de petite taille, de façon à obtenir à partir d'un échantillon le plus grand nombre de cultures indépendantes. Ainsi, les chances de succès de la culture sont plus grandes et l'on obtient un échantillonnage de clones cellulaires différents.*

Le liquide amniotique doit être prélevé dans un récipient stérile, non toxique et hermétiquement clos (par exemple matériel Falcon en plastique). Le transport en laboratoire doit être rapide afin de mettre en culture le plus tôt possible. Avant la mise en culture le prélèvement peut être conservé et transporté à température ambiante. 15 ml de liquide amniotique suffisent pour obtenir un assez grand nombre de boites de culture et donc de préparations chromosomiques.

MISE EN CULTURE

On utilise des petites boites de Pétri en verre Pyrex de 35 mm de diamètre, dans lesquelles a été disposée une lamelle circulaire recouvrant tout le fond.

- *Dans chaque boite on met 1,5 ml de liquide amniotique tel qu'il a été prélevé, sans centrifugation préalable et une quantité égale de milieu nutritif de façon à remplir les boites.*
- *Le milieu nutritif est constitué de RPMI 1640 (Mérieux ou Gibco prêt à l'emploi) avec 20 % de sérum de veau foetal (Gibco) et des antibiotiques (pénicilline 50.000 U/500 ml, streptomycine 0,05 g/500 ml). On obtient ainsi 6 à 10 cultures indépendantes à partir de chaque échantillon de liquide amniotique).*
- *Les cultures sont incubées dans une étuve à 37° C en atmosphère enrichie en CO_2 (5 % CO_2) de façon à maintenir le pH constant à 7,2.*
- *Les boites sont laissées ainsi 4 à 5 jours sans y toucher.*

ENTRETIEN DES CULTURES

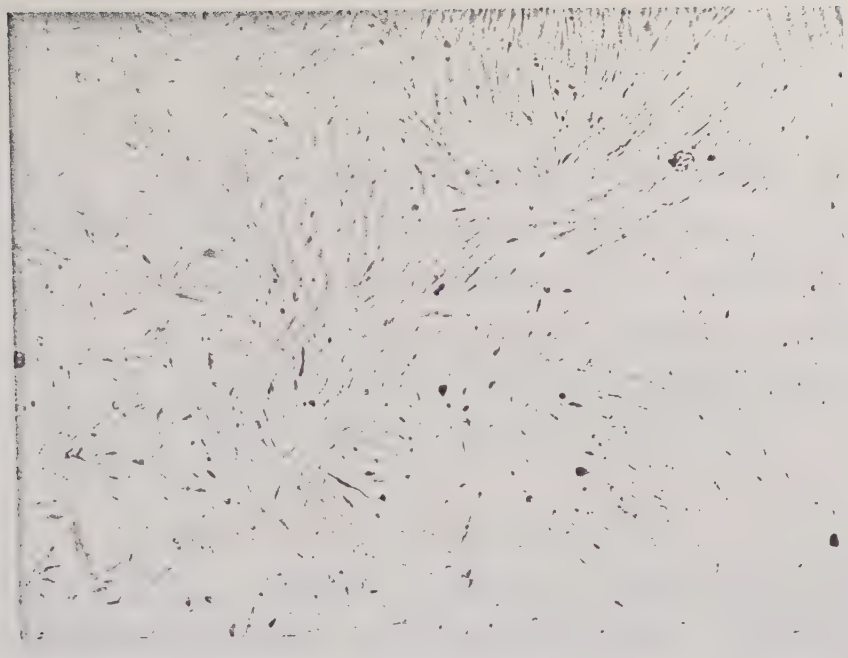
Passé ce délai, le milieu est remplacé par du milieu nutritif neuf.

- *Le milieu de culture est ensuite changé tous les deux jours.*
- *Les cultures sont observées régulièrement au microscope inversé jusqu'à ce que l'on ait une croissance cellulaire suffisante :*
  . soit pour l'analyse chromosomique
  . soit pour l'établissement d'une subculture
- *la pousse cellulaire se fait sur le fond de la boite et sur la lamelle : le transfert de la lamelle dans une autre boite permet là encore d'obtenir deux cultures indépendantes.*

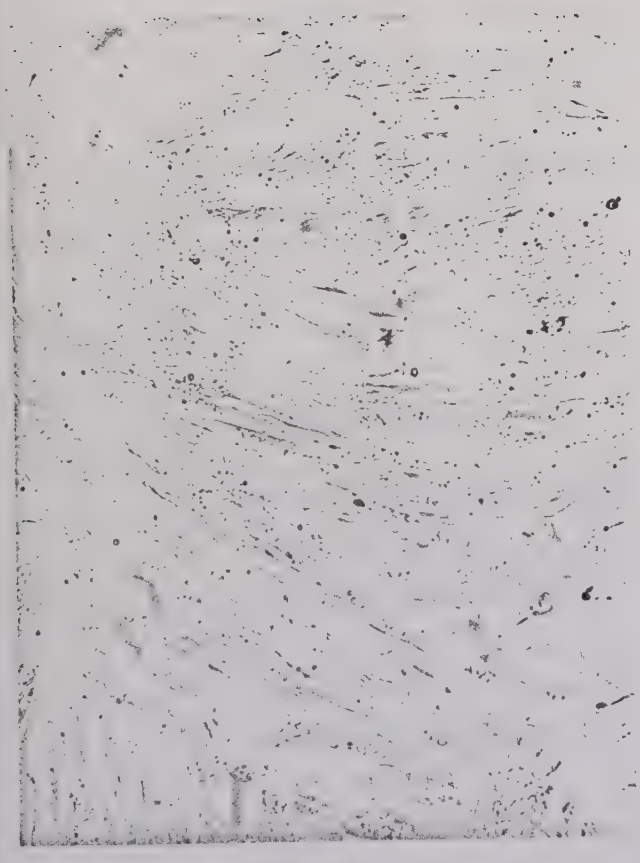
DESCRIPTION DES CULTURES

Leur évolution et leur aspect est sensiblement analogue pour chaque prélèvement :

- *pendant les 6 premiers jours, l'aspect est assez décevant : aucune croissance cellulaire n'est visible, de nombreuses cellules mortes flottent dans le liquide.*



Cellules "fibroblastiques"(X 50)



Cellules "fibroblastiques" (X100)

Cellules"épithéliales" (X 100)

PHOTOS I : <u>CULTURE DE CELLULES AMNIOTIQUES</u> : quelques aspects des différents types de cellules :

(12 jours de culture)

- *Du 6 ème au 12 ème jour, apparaissent les premières cellules adhérentes au verre. D'abord isolées, elles vont en quelques jours former des foyers qui se développent alors rapidement.*
- *C'est à partir du 10/12 ème jour que la croissance de ces cultures est la plus rapide : la taille des foyers augmente rapidement, et il existe un grand nombre de cellules en mitose.*

L'aspect de ces cultures est assez polymorphe : pour chaque boite de culture on obtient 2 à 6 foyers différents (correspondant sans doute chacun à un clone cellulaire).
Ces foyers peuvent avoir plusieurs aspects :
. les uns sont d'allure fibroblastique
. les autres d'allure épithéliale, de morphologie d'ailleurs variable d'un foyer à l'autre (photo I).
. certains foyers enfin sont mixtes.

Lors de la primoculture, ces différents types de foyers se développent tous de façon satisfaisante.

Lorsque les foyers sont bien développés et confluents, la subculture est alors possible.

SUBCULTURES

Elles sont obtenues après trypsination des cellules.
Après avoir jeté le milieu, on rince les cellules avec 1 ml de trypsine EDTA à 0,25 % en solution de Puck (prête à l'emploi - Gibco) et l'on réintroduit 0,5 ml de trypsine EDTA à 37°. Après quelques minutes les cellules sont bien dissociées et remises en suspension à la pipette Pasteur. On ajoute alors 4 ml de milieu nutritif.

Après 2 ou 3 jours à l'étuve, on obtient dans la boite de culture initiale une couche cellulaire homogène qui peut être repiquée de la même façon dans un récipient plus grand permettant ainsi d'entretenir la souche.

PREPARATIONS CHROMOSOMIQUES

Les préparations chromosomiques sont effectuées directement sur les premiers foyers développés sur la lamelle, lors de la phase d'accroissement rapide des cultures.

Les boites où les foyers sont suffisamment bien développés et où les mitoses sont nombreuses sont sélectionnées, ceci entre le 8 ème et le 14 ème jour de culture.

Les cellules sont nourries avec du milieu neuf et les préparations chromosomiques sont effectuées environ 20 heures après ce changement de milieu après avoir contrôlé au microscope inversé que les mitoses sont nombreuses (nombreuses cellules arrondies et très réfringentes). C'est cette technique directe que nous utilisons de préférence.

Les préparations chromosomiques peuvent également être effectuées à partir des subcultures : les cellules sont repiquées sur les mêmes boites de Pétri à lamelles et le choc hypotonique est fait de la même façon, en règle 48 heures après la trypsination des cellules.

CHOC HYPOTONIQUE

- *l'incubation préalable des cellules avec de la colchicine n'est pas nécessaire si l'on choisit bien le moment du choc hypotonique.*
- *la lamelle est prélevée stérilement et plongée dans la solution hypotonique suivante pendant 20 minutes à 37° C :*
  - *5 ml solution de Hanks*
  - *10 ml de chlorure de magnésium (solution à 1/6 d'une solumère de 5,08 g/250 ml d'eau)*
  - *85 ml d'eau d'Evian*

FIXATION

Le fixateur est l'éthanol acide acétique 3/1.
On ajoute 1 ml de fixateur à la solution hypotonique pendant 1 à 2 minutes puis la lamelle est plongée dans du fixateur frais pendant 40 minutes et séchée à l'air libre.

Avec cette technique, des préparations chromosomiques satisfaisantes sont obtenues pour la plupart des prélèvements entre le 8 ème et le 14 ème jour de culture (tableau II). La technique directe sur les premiers foyers est celle que nous préférons bien que la qualité des mitoses pose parfois quelques problèmes. En effet, chaque type de cellule a une résistance propre au choc hypotonique . Le résultat final sera donc un mélange de métaphases trop dispersées et donc incomplètes, de mitoses peu interprétables et de mitoses de bonne qualité.

Par contre, cette méthode a plusieurs avantages, outre sa très grande simplicité :

- *c'est le moyen le plus rapide pour obtenir les premières préparations chromosomiques*
- *le caryotype foetal peut ainsi être établi sur plusieurs foyers c'est-à-dire sur plusieurs clones cellulaires différents.*

ETABLISSEMENT DU CARYOTYPE FOETAL

Ces préparations chromosomiques peuvent être utilisées pour les différentes méthodes de coloration chromosomique.
La coloration au Giemsa permet d'établir le caryotype standard en analysant un nombre suffisant de mitoses (15 à 20).

LES TECHNIQUES D'IDENTIFICATION CHROMOSOMIQUE *permettent de reconnaître avec précision chaque paire chromosomique en obtenant le long des chromatides une alternance de bandes d'intensités différentes, la séquence de ces bandes étant caractéristique de chaque chromosome. La technique en fluorescence après coloration par la quinacrine et la technique par trypsination permettent d'obtenir les bandes Q et G.*

L'ETUDE EN FLUORESCENCE est faite en premier parce qu'elle permet d'obtenir des bandes de façon constante sans faire "vieillir" les préparations. De plus, la coloration au Giemsa peut être ensuite faite sur les mêmes préparations. En outre, la fluorescence spécifique du chromosome Y, permet de connaître d'emblée le sexe foetal. La coloration que nous utilisons diffère peu de la technique originale décrite par PEARSON (96) et CASPERSON (17).

Les lamelles sont réhydratées pendant 5 minutes dans une solution tampon de Macllvaine à pH 5,5, puis colorées 20 minutes dans une solution acqueuse à 0,5 % de quinacrine dihydrochloride. Après un rinçage soigneux, les préparations sont lutées en solution tamponnée pour une observation immédiate en lumière ultraviolette (filtre d'excitation BG12, filtre d'arrêt K530 (Photo II).

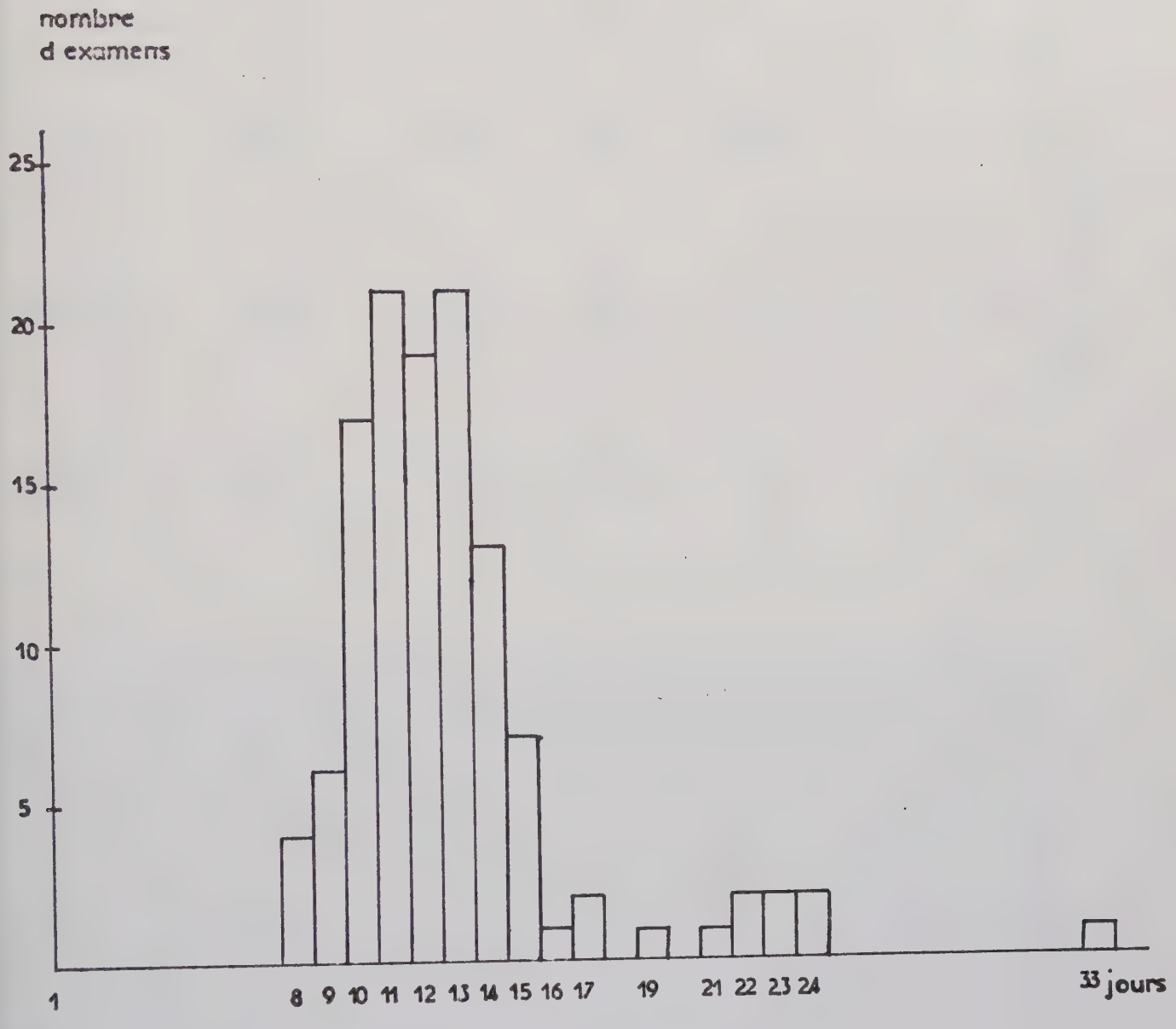
LES BANDES G sont obtenues par la technique de marquage par trypsination décrite par Seabright (108) :
les lamelles "vieillies" de quelques jours sont plongées 10 à 20 secondes dans une solution à 20°C de trypsine Difco à 0,25 % puis rapidement rincées au P.B.S. et colorées par le mélange suivant pendant 10 minutes : Giemsa R.A.L., solution R 3 ml, méthanol 3 ml, acide citrique 0,1M 3 ml, phosphate disodique 0,2M 7,8 ml, eau distillée q.s.p. 100 ml. (photos III).

Les préparations chromosomiques obtenues avec ces différentes techniques sont photographiées et les chromosomes sont classés selon la nomenclature adoptée lors de la Conférence de Paris en 1971 (128) (photos II et III).

Toutes ces étapes imposent de nombreux impératifs techniques et cela conduit à souligner le délai nécessaire pour aboutir au diagnostic :

- la croissance cellulaire demande un temps moyen de 12 jours (tableau II),
- les préparations chromosomiques sont obtenues dans les 2 à 4 jours suivants
- l'analyse cytogénétique demande encore quelques jours, soit un délai total de 2 à 3 semaines.

TABLEAU II



JOUR DU DIAGNOSTIC CHROMOSOMIQUE

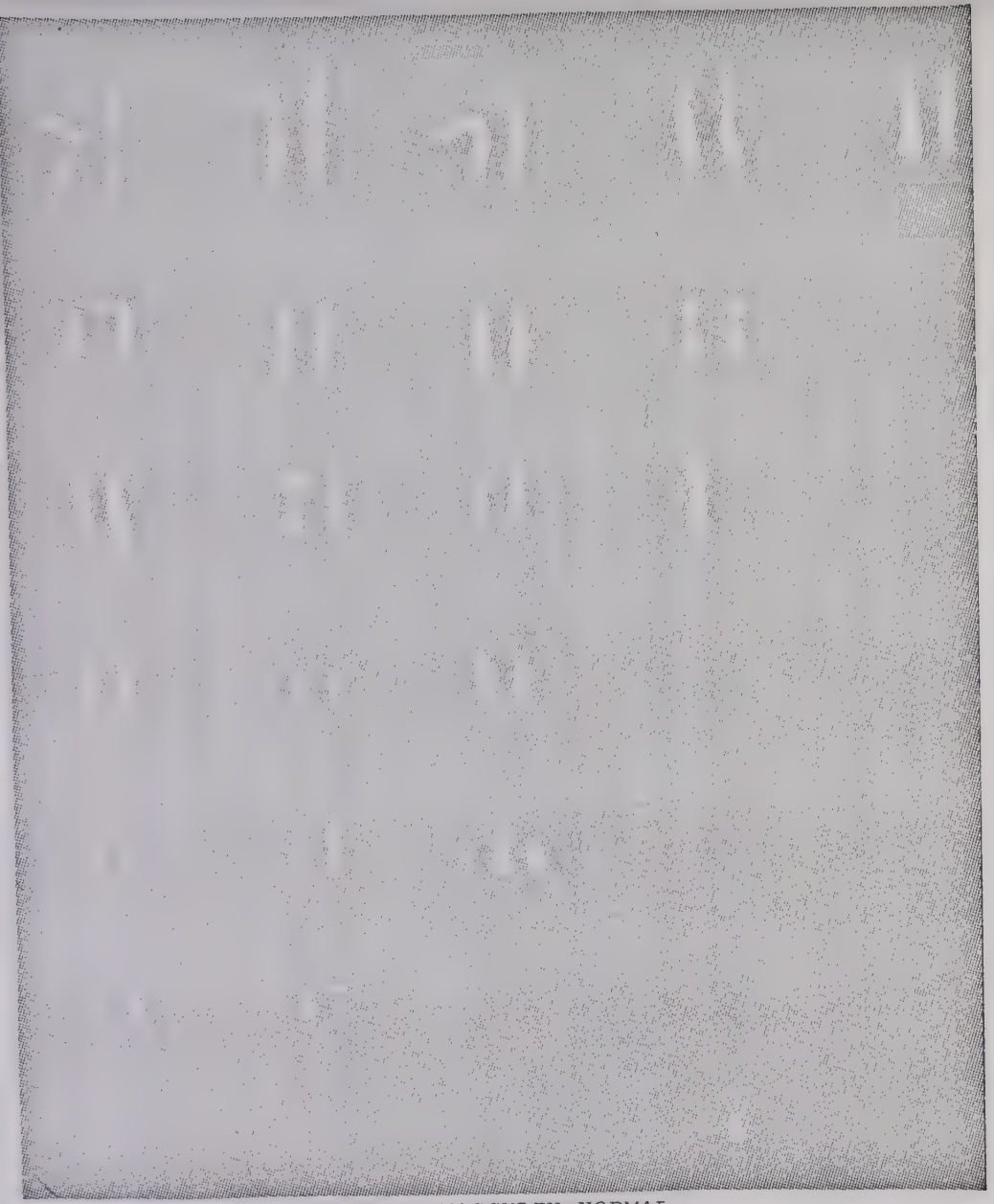


Photo II : CARYOTYPE MASCULIN NORMAL
Bandæ Q : Fluorescence à la quinacrine

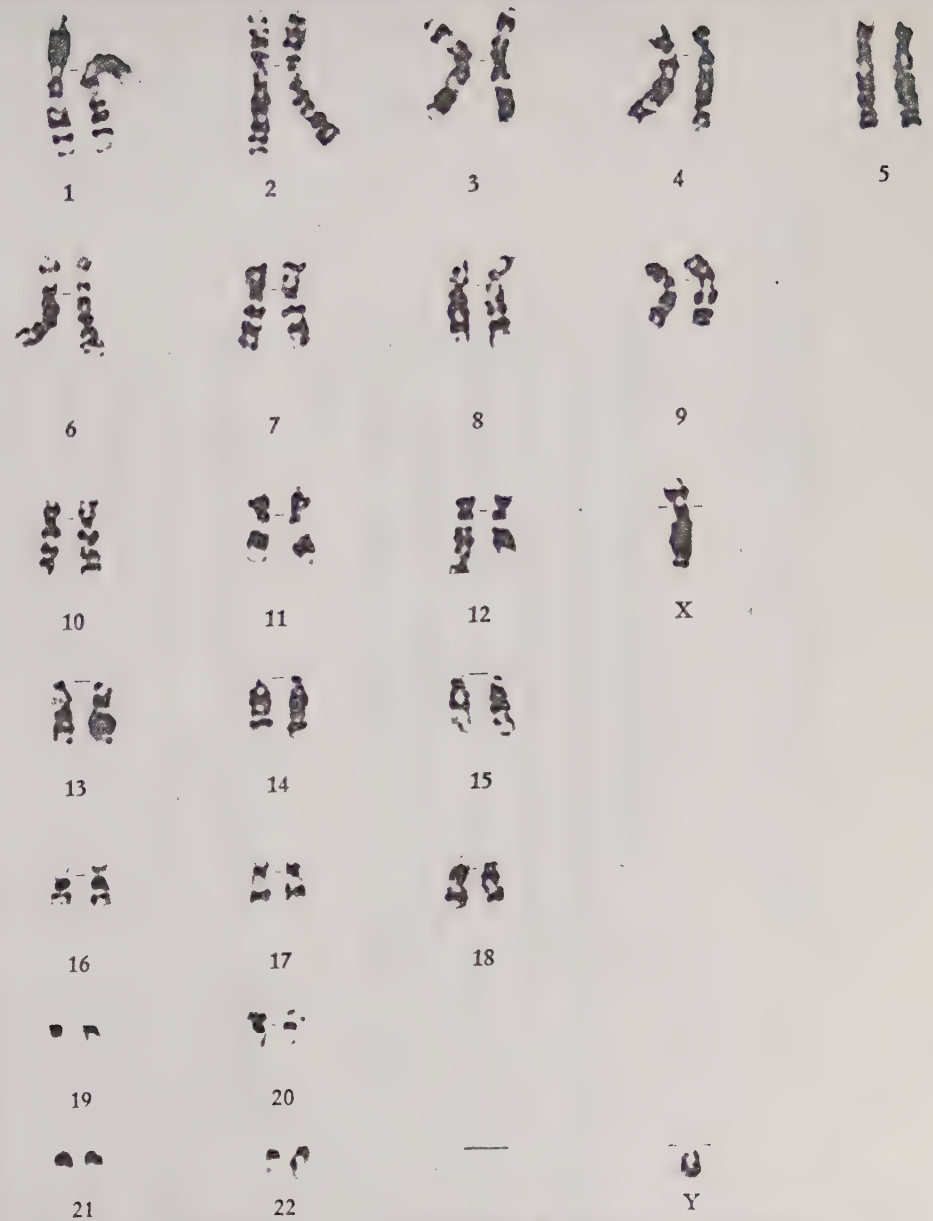


Photo III : CARYOTYPE MASCULIN NORMAL
Bandæ G : Trypsine

IMPERATIFS TECHNIQUES ET PROBLEMES DIAGNOSTICS

I. LE SUCCES DE LA CULTURE CELLULAIRE

La culture cellulaire est pratiquement le seul temps de la méthode qui peut être source d'échec. Chaque fois que l'on a une croissance cellulaire satisfaisante, on peut obtenir des préparations chromosomiques. Il est donc important d'analyser quelles peuvent être les causes d'échec de la culture.

LES ECHECS DUS AUX MAUVAISES CONDITIONS TECHNIQUES

Il est évident que les conditions de culture sont primordiales et doivent faire l'objet d'un contrôle rigoureux et permanent : la bonne qualité du milieu nutritif, l'absence de toxicité du sérum de veau foetal sont testés pour chaque lot utilisé. La stabilité de température et l'alimentation en gaz de l'étuve sont surveillées quotidiennement. De même un grand soin est apporté au lavage et à la stérilisation de la vaisselle. Ces causes éventuelles d'échec doivent être pratiquement éliminées pour que la technique soit fiable et il apparaît donc que seul un laboratoire parfaitement entraîné et utilisant la technique en permanence puisse contrôler sans cesse ces facteurs.

LES ECHECS DUS AU LIQUIDE AMNIOTIQUE LUI MEME

- *Prélèvement trop précoce : Il semble qu'un liquide amniotique prélevé trop tôt dans la grossesse puisse être une cause d'échec de la culture comme nous l'avons vu dans l'étude préliminaire. Il est probable que la quantité de cellules présentes dans le liquide amniotique est alors insuffisante pour permettre à la culture de démarrer.*

- *Quantité de liquide amniotique : Il est souhaitable de pouvoir mettre en route plusieurs boites de culture pour augmenter les chances de succès. 10 à 15 ml de liquide amniotique suffisent pour établir le diagnostic chromosomique ; 20 ml sont souhaitables pour établir une souche cellulaire dans de bonnes conditions.*

- *Etat du liquide amniotique : La présence de sang a parfois une incidence sur le succès de la culture. De plus la quantité de sang présente dans le prélèvement a son importance et d'après notre expérience on peut dire que :*
  - *. un liquide légèrement teinté de sang (noté sang +) se comporte exactement comme les autres.*
  - *. un liquide franchement sanglant permet d'obtenir une croissance cellulaire parfois un peu plus lente. Mais si la quantité de sang est trop importante (sang presque pur avec formation de caillot) les chances de succès de la culture sont compromises.*
  - *. un liquide amniotique brun verdâtre ou brun foncé, témoin probable d'un saignement intra-ovulaire ancien, permet d'obtenir une croissance cellulaire satisfaisante mais parfois un peu plus lente.*

Dans les cas d'échecs, une deuxième amniocentèse doit permettre d'obtenir un résultat.

II. FIABILITE DU RESULTAT

Il est évident que le diagnostic doit être posé avec certitude et sans risque d'erreur.

La croissance de tissu maternel ne peut être éliminée avec certitude mais plusieurs arguments plaident contre cette possibilité :

- *il s'agirait d'une croissance cellulaire très précoce que nous n'avons jamais observée (89)*
- *la multiplication des boites de culture permet de l'éviter : il y a peu de chances que le tissu maternel se développe dans toutes les boites.*
- *le diagnostic prévu a toujours été vérifié à la naissance ou lors de l'interruption de grossesse. Les grandes séries de diagnostics prénatals publiées actuellement permettent d'écarter cette éventualité.*

Le diagnostic d'une mosaïque est beaucoup plus délicat (9)

- *là encore la multiplication des préparations chromosomiques permet d'avoir plus de chances de les mettre en évidence.*

- *à l'inverse, il a été décrit des pseudo-mosaïques (64-66-78) lors de l'étude cytogénétique de liquides amniotiques. L'interprétation de tels faits est alors délicate.*

La précision de l'étude cytogénétique repose sur la qualité des techniques d'identification chromosomique dont dispose le laboratoire. La limite du diagnostic chromosomique prénatal est donc celle de ces techniques.

Compte tenu de ces remarques, le diagnostic d'une anomalie chromosomique à partir de cultures de cellules du liquide amniotique est actuellement possible de façon fiable. Ces résultats, confrontés à ceux obtenus par ailleurs, nous ont permis :

- *de standardiser la méthode depuis les conditions de prélèvements jusqu'au diagnostic*
- *de mieux apprécier les indications de l'amniocentèse en essayant de les élargir au fur et à mesure d'une meilleure technicité, compte tenu du risque de l'amniocentèse elle-même.*

INDICATIONS

INDICATIONS DU DIAGNOSTIC INTRA-UTERIN DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

La possibilité de dépister in utero les anomalies chromosomiques dès le quatrième mois de la grossesse impose de définir avec rigueur les indications de ce diagnostic.

Il n'est pas question, en effet, d'utiliser une telle technique si le risque, même théorique, de la ponction amniotique est supérieur à celui de donner naissance à un enfant porteur d'une anomalie chromosomique.

C'est cette notion qui permet de définir plusieurs groupes d'indications qui sont ceux habituellement admis par la plupart des auteurs. (22-25).

LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES TRANSMISES PAR LES PARENTS *correspondent au groupe à haut risque et représentent le type d'indication qui ne prête pas à discussion.*

LORSQUE LE CARYOTYPE DES PARENTS EST NORMAL *trois types d'indications ont été proposées :*

- *femme d'âge supérieur à 40 ans*
- *grossesse survenant après la naissance d'un enfant porteur d'une trisomie libre.*
- *enfin, le déroulement anormal d'une grossesse peut conduire, nous le reverrons, à rechercher une anomalie chromosomique chez le foetus.*

LE DIAGNOSTIC DU SEXE FOETAL DANS LES MALADIES RECESSIVES LIEES AU SEXE *pose un problème spécifique que nous envisagerons séparément.*

Ces différentes indications vont maintenant être discutées.

LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES TRANSMISES PAR LES PARENTS

Une anomalie de structure, équilibrée, peut exister chez les individus phénotypiquement normaux. Les conséquences théoriques d'une telle anomalie sur la descendance dépendent du remaniement en cause.

Ces sujets porteurs de translocation représentent 4 % des anomalies chromosomiques à la naissance ou dans les avortements. La moitié sont apparues de novo, les autres sont transmises par l'un des parents.

Les circonstances de découverte d'une telle anomalie sont variables :

- *le plus souvent, l'anomalie est dépistée lors de la découverte d'un remaniement chromosomique dans la descendance ou dans la fratrie : avortement spontané caryotypé (11) ou bien naissance d'un enfant malformé.*
- *parfois la translocation est découverte lors de l'étude cytogénétique des couples après avortements spontanés précoces à répétition.*

Les risques de naissance d'un enfant malformé lorsque l'un des géniteurs est porteur d'une translocation sont variables selon le type d'anomalie envisagée. Quelques exemples ont été choisis pour montrer la diversité des problèmes.

Dans l'exemple de la translocation 21q-14q, l'une des plus fréquentes, six zygotes différents sont possibles après union avec un gamète normal :

- *transloqué équilibré, phénotypiquement normal*
- *transloqué déséquilibré trisomique 21*
- *transloqué déséquilibré trisomique 14 (létal)*
- *transloqué déséquilibré monosomique 21 (létal)*
- *caryotype normal*

Si l'on ne tient compte que des combinaisons viables, le risque de voir naître un enfant trisomique 21, donc mongolien est de 1/3. En fait, le risque réel semble être inférieur selon les études faites sur les familles où il existe une translocation D-G Il dépend du sexe du parent porteur de la translocation et l'on estime qu'il est de 10 à 15 % si la mère porte la translocation et tombe à 5 % si c'est le père qui est porteur (8 - 23). De toutes façons il s'agit là encore d'un risque d'anomalie élevé, mais la connaissance de telles données doit aider à l'information correcte du couple au moment où l'on envisage l'amniocentèse.

Dans les translocations de type D-D, l'identification des paires chromosomiques revêt un intérêt particulier :

- *s'il s'agit d'une translocation entre deux chromosomes homologues le risque de survenue d'une anomalie est alors de 100 % mais toutes les anomalies ne sont pas viables et bien entendu, l'amniocentèse n'est ici d'aucun secours.*
- *si la translocation intéresse deux paires différentes, il faut signaler que seule la trisomie 13 peut conduire à un zygote viable. Donc d'une façon théorique, seule les translocations D-D où l'un des chromosomes 13 est impliqué constituent une bonne indication de l'amniocentèse.*

Dans les translocations réciproques , par contre, le risque de naissance d'un enfant malformé est beaucoup plus difficile à apprécier du fait de la grande variété d'anomalies.
Théoriquement, il existe six types de zygotes possibles comme dans les translocations robertsonniennes. Dans la pratique, on ne sait pas toujours si les différentes possibilités peuvent donner naissance à un zygote viable. Dans tous les cas, il semble que d'une façon globale le risque réel d'anomalie soit encore très élevé bien qu'inférieur au risque théorique.

L'existence d'une mosaïque chez l'un des géniteurs pose un problème particulier. En effet, le risque de survenue d'une anomalie ne peut être apprécié puisque on ne peut savoir à quel degré la mosaïque intéresse les gonades.

Enfin, de nombreuses autres variétés de remaniements ont été décrites en particulier depuis l'emploi des nouvelles techniques d'identification chromosomique et il convient d'insister tout particulièrement sur la nécessité pour le laboratoire qui sera responsable du diagnostic prénatal, de faire lui-même l'identification précise de l'anomalie chromosomique parentale.
Cependant, il faut souligner les limites de ces techniques, si précises soient-elles, soit parce qu'il s'agit d'un remaniement de trop petite taille pour conduire à un diagnostic de certitude chez l'enfant, soit parce qu'il n'est pas possible de prévoir les conséquences d'un remaniement complexe sur la descendance.

Dans ces cas, le cytogénéticien doit savoir récuser une indication de diagnostic prénatal qui dépasse les possibilités de son laboratoire.

Ainsi, dans ces familles où la crainte d'un nouveau drame interdisait toute nouvelle grossesse, l'amniocentèse permet la naissance d'enfants normaux au prix d'une interruption de grossesse lorsqu'une anomalie a été dépistée chez le foetus.
Le rôle du cytogénéticien ne se borne plus ici à une évaluation de risque.

RECHERCHE D'UNE ANOMALIE CHROMOSOMIQUE LORSQUE LE CARYOTYPE DES PARENTS EST NORMAL

Il s'agit dans l'immense majorité des cas d'éliminer une trisomie 21.

AGE MATERNEL

On sait en effet que la fréquence de la trisomie 21 augmente avec l'âge maternel.
Ce type d'indication mérite d'être discuté parce qu'il représente en nombre l'immense majorité des cas de diagnostic prénatal.
A partir de quel âge maternel doit-on envisager une amniocentèse ? L'indication du diagnostic prénatal doit-elle être posée ici de façon systématique, c'est-à-dire, doit-on proposer une amniocentèse à toutes les femmes après 40 ans au risque de provoquer chez elles une inquiétude qui n'était pas jusqu'alors exprimée ?

Là encore intervient l'évaluation du risque de trisomie 21 en fonction de l'âge maternel (tableau III) (71).

Ce risque est de 1/600 de la totalité des naissances vivantes ; à 25 ans, il est de 0,3/1000 pour s'élever à 3,5/1000 entre 35 et 39 ans, à 14/1000 à 40 ans pour atteindre 25/1000 à 45 ans. En fait, il semble que ces chiffres habituellement admis doivent être majorés ; les études préliminaires faites dans ce groupe d'âge sur les liquides amniotiques semblent indiquer que le risque de trisomie 21 atteint 2,5/100 après 40 ans.(tableau VII) (8 - 10).

L'indication de diagnostic prénatal semble donc tout à fait justifiée après 40 ans et a fortiori s'il existe un autre argument dans l'histoire clinique :

- *stérilité pendant de nombreuses années*
- *antécédent de trisomie 21*
- *antécédent de fausse couche spontanée*
- *anxiété des parents*

TABLEAU III

âge maternel (ans)	fréquence de la trisomie 21 (pour 1000 naissances)
20 — 29	0,28 — 0,29
30 — 34	1,72
35 — 39	3,52
40 — 44	14,18
45 et plus	26,32

fréquence de la trisomie 21 selon l'âge maternel (d'après LILIENFELD et BENESH 1969)

TRISOMIE ANTERIEURE

Dans les grossesses survenant après la naissance d'un enfant trisomique le diagnostic prénatal est souvent demandé.
Bien que l'on sache que cette anomalie résulte d'un accident du hasard au moment de la méiose, il semble que le risque de récurrence de la trisomie 21 soit plus élevé que dans la population générale. Bien entendu, il dépend ici aussi de l'âge maternel. En fait, la fréquence réelle de récurrence de l'affection est difficile à évaluer avec précision. Sa meilleure appréciation semble être là encore les études faites sur les liquides amniotiques dans lesquelles les auteurs trouvent une fréquence de récidive de trisomie 21 atteignant 1 % . (tableau VII) (10).

Ce groupe d'indications correspond à un risque bas d'anomalie chromosomique mais la ponction amniotique est souvent demandée expressément par les couples qui redoutent la naissance d'un nouvel enfant malformé.

L'EVOLUTION ANORMALE D'UNE GROSSESSE à son début peut également conduire à demander une ponction amniotique.
L'existence de fausses couches à répétition dans les antécédents des métrorragies du premier trimestre, une chute précoce des dosages hormonaux urinaires pourront amener à rechercher une anomalie chromosomique du foetus afin d'éviter une éventuelle thérapeutique pour maintenir une grossesse alors que l'enfant est atteint.

De même, la découverte d'une anomalie chromosomique en fin de grossesse dans certaines hypotrophies foeto-placentaires pourra guider la conduite obstétricale et éviter d'entreprendre des manoeuvres de réanimation sur un enfant malformé et débile.

Ces éléments cliniques sont d'une importance capitale à étudier. En effet, leur étude prospective pourra peut-être permettre de cerner les indications de la ponction amniotique et de la pratiquer sur d'autres arguments que le simple calcul des probabilités.

Il pose un problème tout différent bien que la technique soit exactement la même (26).

Le plus souvent, la mère est porteuse ou supposée porteuse de la tare liée à l'X : un garçon sur deux sera affecté tandis que toutes les filles seront indemnes, une sur deux étant conductrice. On peut donc décider de l'avortement si le foetus est masculin mais l'attitude n'est pas satisfaisante au plan génétique puisque un sur deux des garçons sera sain. En effet, seules parmi les affections récessives liées à l'X, le syndrome de Lesch-Nyhan et la maladie de Hunter peuvent être diagnostiqués in utero. Les autres, tels la myopathie de Duchenne ou l'hémophilie ne le sont pas encore.

Si le père est atteint d'une affection liée à l'X, tous ses garçons seront sains et ses filles vectrices : l'avortement sélectif des foetus féminins réduirait donc la fréquence de ces maladies. Ce problème s'il est rarement posé nous a été soumis une fois de façon précise dans une famille d'hémophiles (observation LA 89).

RESULTATS

DIACNOSTIC PRENATAL DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES AU COURS DE 125 GROSSESSES

Nous exposerons ici les résultats de l'étude cytogénétique du liquide amniotique chez 125 patientes, après 128 amniocentèses faites à partir de la seizième semaine de grossesse.

Les amniocentèses ont été pratiquées par les obstétriciens (Maternité Baudelocque, La Pitié, Port Royal, Rotschild, Saint Antoine et Bichat), entre la 16 ème et la 20 ème semaine d'aménorrhée sauf dans quelques cas de grossesses pathologiques où elles furent plus tardives. Dans tous les cas les cultures ont été entreprises à partir de 10 à 15 cc de liquide amniotique. L'aspect de ces 128 prélèvements est indiqué dans le tableau IV : il s'agissait dans 93 % des cas de liquide clair ou avec des traces de sang.

Le caryotype foetal a pu être établi pour 120 des 125 observations. En effet, comme l'indique le tableau V, nous avons eu 8 échecs après une tentative de culture :
- trois patientes (LA 46 - LA 49 - LA 116) ont subi une deuxième amniocentèse permettant d'établir le caryotype foetal.
- pour deux patientes (LA 45 - LA 114), la première ponction trop tardive et l'indication (l'âge maternel élevé) ont fait choisir de ne pas réitérer l'amniocentèse.
- les trois autres prélèvements (LA 78 - LA 83 - LA 92) étaient des liquides amniotiques très sanglants avec formation d'un caillot. Là encore le risque d'une deuxième ponction n'a pas été couru étant donné l'indication (l'âge maternel élevé) et la crainte de provoquer un nouveau saignement intra-ovulaire.

Chaque fois que l'on a choisi de refaire une deuxième ponction, le diagnostic chromosomique a pu être établi permettant ainsi de réduire au maximum le risque d'échec inhérant à toute technique. Les patientes pour lesquelles le diagnostic n'a pu être établi ont donné naissance à des enfants normaux.

Le diagnostic chromosomique a été confirmé chaque fois que cela était possible en vérifiant la concordance du diagnostic prénatal avec l'aspect clinique et le sexe des enfants à la naissance ou des foetus pour les interruptions thérapeutiques de grossesse et les avortements spontanés. Cette vérification a pu être faite 70 fois. Neuf patientes n'ont pas donné de leurs nouvelles et les 46 autres n'ont pas encore accouché.

L'analyse des accidents obstréticaux chez ces patientes mérite une attention toute particulière afin de déterminer la responsabilité de l'amniocentèse.
Dans cette série, il y a eu 5 avortements spontanés et 3 enfants morts dans la période périnatale.

LES AVORTEMENTS

Dans 3 cas, une autre cause peut être évoquée :

- Observation LA 39 : l'avortement a eu lieu 2 semaines après l'amniocentèse. Il s'agissait pour cette patiente de 43 ans du 7 ème avortement tardif (béance du col)

- Observation LA 51 : l'avortement a eu lieu 2 semaines après l'amniocentèse chez une 10 ème pare de 44 ans avec incompatibilité Rhésus sévère.

- Observation LA 101 : avortement 2 mois après l'amniocentèse foetus masculin avec omphalocèle.

Pour les deux autres, il n'existe aucune autre étiologie évidente et la responsabilité de l'amniocentèse si elle n'est pas prouvée ne peut être éliminée :

- Observation LA 75 : avortement 1 mois après l'amniocentèse chez une femme de 43 ans ayant eu un enfant porteur de spina-bifida. La caryotype foetal était normal et les α foeto-protéines étaient normales dans le liquide amniotique. L'examen du foetus n'a permis de tirer aucune conclusion.

- *Observation LA 123 : la ponction amniotique à la 19 ème semaine d'une grossesse apparemment bien développée (bruits du coeur foetal perçus), ramène un liquide brun foncé. L'avortement spontané débute le lendemain de l'amniocentèse.*

LES MORTS DE LA PERIODE PERINATALE

Deux d'entre eux étaient des enfants polymalformés à caryotype normal lors de grossesses avec hypotrophie foeto-placentaire (observations LA 12 et LA 63) ;
La troisième observation (LA 128) est un garçon mort-né avec procidence du cordon.

TABLEAU IV

CLAIR	111	93 °/. _ 2 échecs
TRACES DE SANG	8	
SANG ++	2	7 °/. _ 3 échecs
SANG +++	3	
BRUN_VERT	4	
	128	

ASPECT DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

(128 prélèvements chez 125 patientes)

TABLEAU V

	TOTAL	APRES 1 PONCTION	APRES 2 PONCTIONS
NOMBRE DE LIQUIDES AMNIOTIQUES	125	125	3
ECHECS	5 4 °/.	8 6,4 °/.	0
SUCCES	120 96 °/.	117 93,6 °/.	3

ECHECS ET SUCCES DES CULTURES

ANALYSE DES RESULTATS SELON LES INDICATIONS

Les résultats pour chaque diagnostic figurent sur les tableaux A à E. Le tableau VI résume l'ensemble de ces résultats.

ANOMALIES CHROMOSOMIQUES TRANSMISES PAR L'UN DES PARENTS

(tableau A)

Un diagnostic prénatal a été fait pour 7 grossesses chez 6 patientes. Nous avons retrouvé une translocation équilibrée (3 fois) ou un caryotype normal (4 fois). Le diagnostic prénatal a permis dans ces familles d'envisager une grossesse jusqu'alors évitée et de la mener à terme, sans crainte de voir naître un nouvel enfant malformé.

Les translocations Robertsoniennes : 4 observations

Observation LA 13: translocation (13q - 14 q) portée par la mère.

La translocation est découverte à l'issue d'un trosième avortement spontané. Aucune étude cytogénétique des produits d'avortements n'a été faite. Les caryotypes sanguins montrent que la patiente et sa mère ont la même formule chromosomique alors que le caryotype du mari est normal. Il n'existe dans cette famille aucun antécédent de malformation.

La patiente est vue lors d'une quatrième grossesse dont l'évolution clinique et hormonale est normale. La ponction amniotique à la 17 ème semaine permet de montrer après 13 jours de culture qu'il s'agit d'un enfant masculin porteur de la même translocation que sa mère : 45 XY t(13q - 14q). Naissance d'un garçon normal à terme. Le caryotype sanguin confirme le diagnostic prénatal.

Observation LA 90 : translocation (13q - 14q) portée par la mère (photo IV)

La translocation est découverte à l'issue de deux avortements spontanés précoces par l'établissement du caryotype sanguin des parents. Le caryotype des autres membres de la famille n'est pas connu. Il n'existe aucune autre histoire de fausse couche ou de malformation.

TABLEAU VI

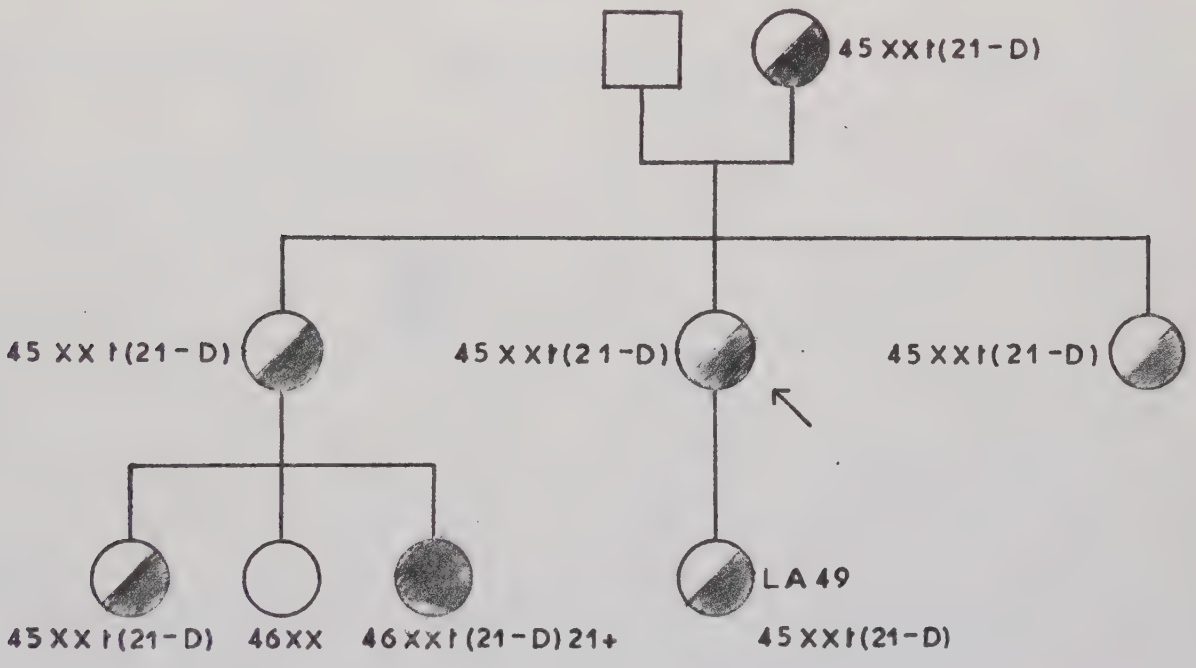
INDICATIONS	NOMBRE DE CAS	CARYOTYPES "NORMAUX"	ANOMALIES DEPISTEES
Translocation	7	5 (3 translocations équilibrées)	—
Age maternel > 40 ans	77	73 1 45XYt(13_14)	2 TRI 21 1 XXY
Antécédent de Trisomie libre	13	13	—
Grossesses Pathologiques	10	10	—
Maladies récessives liées au sexe	13	7	(6)

RESULTATS

Lors d'une troisième grossesse d'évolution clinique et hormonale normale, l'amniocentèse à la 19 ème semaine montre après 13 jours de culture qu'il s'agit d'un garçon porteur de la même translocation que sa mère. Naissance d'un garçon normal à terme.

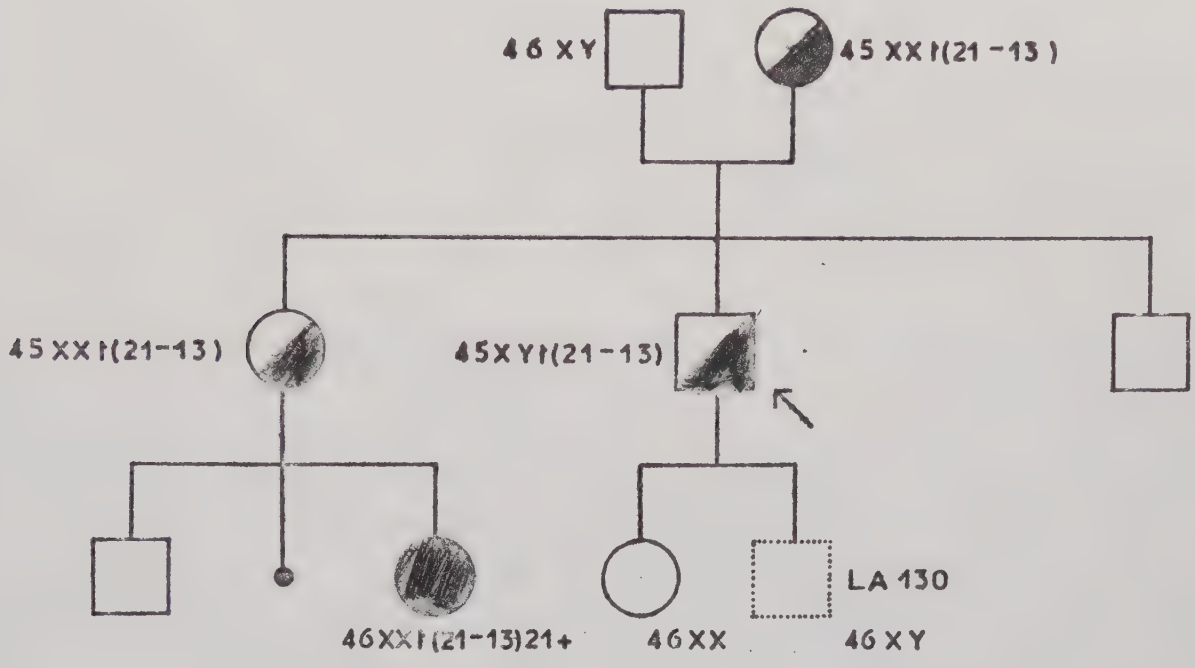
Observation LA 49 :

Translocation (21 -D) portée par la mère. La translocation est découverte lors d'une enquête familiale à l'occasion de la naissance d'un enfant trisomique 21 chez la soeur de la patiente. La translocation est portée par plusieurs membres de la famille:



La patiente mariée depuis 10 ans se soumet à une contraception dans la crainte de voir naître un enfant mongolien. Une grossesse est décidée sur la certitude d'avoir un diagnostic prénatal. La grossesse est suivie dès son début sur le plan clinique et hormonal. Son évolution est normale. Une première amniocentèse à la 16 ème semaine conduit à un échec de culture. Une deuxième amniocentèse est tout de suite décidée et faite à la 18 ème semaine permettant cette fois de dire après 10 jours de culture que le caryotype foetal est identique à celui de la patiente : 46 XXt (21+D) - Naissance d'une fille normale à terme.

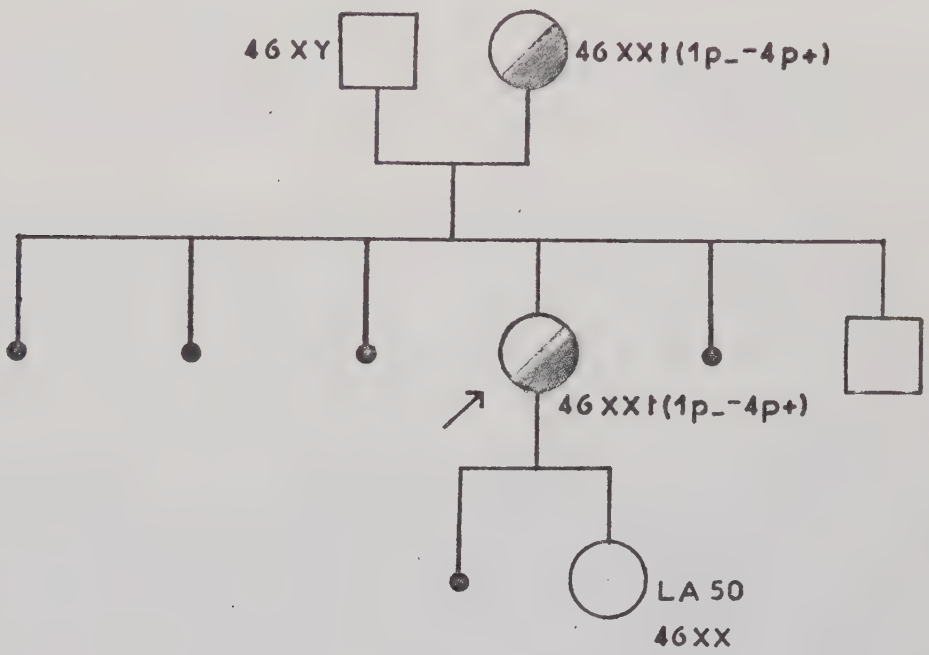
Observation LA 130 : translocation (21q + 13q) portée par le père (photo V). La translocation est découverte lors d'une enquête familiale à l'occasion de la naissance d'un mongolien chez la soeur du père. La généalogie de la famille est la suivante :



Dans cette famille, une deuxième grossesse est décidée sur la certitude d'avoir un diagnostic chromosomique intra-utérin. L'évolution clinique et hormonale de cette grossesse est normale. La ponction amniotique à la 18 ème semaine permet de montrer après 11 jours de culture que l'enfant a un caryotype masculin normal. L'enfant n'est pas encore né.

TRANSLOCATION RECIPROQUE : 1 observation

Observation LA 50 : translocation réciproque équilibrée chez la mère le caryotype 46 XXt(1p - 4p+) (photo VI) a été identifié grâce à la technique de banding par la trypsine. La translocation a été dépistée à l'occasion d'une histoire familiale de fausses couches à répétition. En effet, la généalogie est la suivante :



L'anomalie est sans doute responsable des avortements répétés dans cette famille. Aucun enfant malformé n'est né vivant. Le risque réel de voir naître un enfant malformé est donc des plus difficile à évaluer mais l'histoire familiale ne permet en aucun cas de conclure que toutes les anomalies possibles sont létales. Chez cette proposante, une première grossesse conduit à un avortement spontané dont le produit n'est pas examiné.
La deuxième grossesse est suivie dès son début. Son déroulement clinique et hormonal est normal. A 15 semaines, une amniocentèse permet de prélever 9 cc de liquide amniotique clair. La culture cellulaire est un échec (ponction trop précoce). Une deuxième amniocentèse à la 18 ème semaine permet de montrer grâce aux techniques d'identification chromosomique et après 11 jours de culture, que l'enfant a un caryotype féminin normal. Une fille normale est née à terme.

Fragment surnuméraire en mosaïque chez la mère : nous avons une famille de ce type.

Observations LA 38 et LA 109 : (même patiente) (photo VII)

La mère est porteuse d'un fragment surnuméraire en mosaïque (60 % des cellules dans le sang). L'origine exacte de ce fragment n'a pu être déterminé avec les techniques dont nous disposons.
L'anomalie a été découverte à la naissance d'une première enfant malformée, porteuse d'une cardiopathie et chez laquelle le fragment surnuméraire est présent dans toutes les cellules.
Le risque de récurrence de l'affection est très difficile à chiffrer puisqu'on ne connait pas la fréquence des cellules anormales dans les gonades.
Lors de sa deuxième grossesse (LA 38) la patiente ne consulte qu'à la 24 ème semaine de grossesse. L'amniocentèse est tout de suite faite. Le caryotype après 13 jours de culture montre que l'enfant (une fille) n'a pas hérité du fragment anormal. Naissance d'une fille normale à terme.
La troisième grossesse (LA 109) est cette fois suivie dès son début La ponction amniotique à 18 semaines montre après 9 jours de culture qu'il s'agit d'une deuxième fille à caryotype normal. Naissance d'une fille normale à terme.

Photo IV : Translocation 13 q - 14 q équilibrée
chez la mère (LA 90)
Caryotype partiel - Bandes G

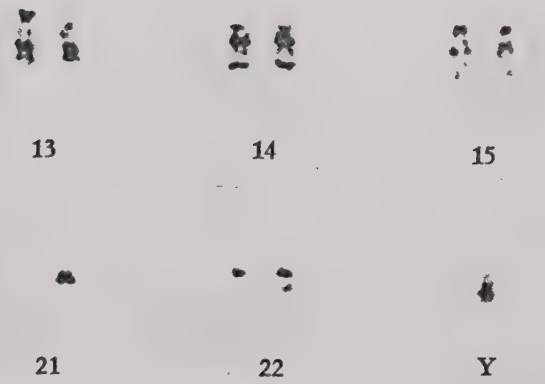


Photo V : Translocation 21 q - 13 q équilibrée
chez le père (LA 130)
Caryotype partiel - Bandes G

Photo VI : Translocation 1p - 4 p + équilibrée
chez la mère (LA 50)
caryotypes partiels - Bandes G

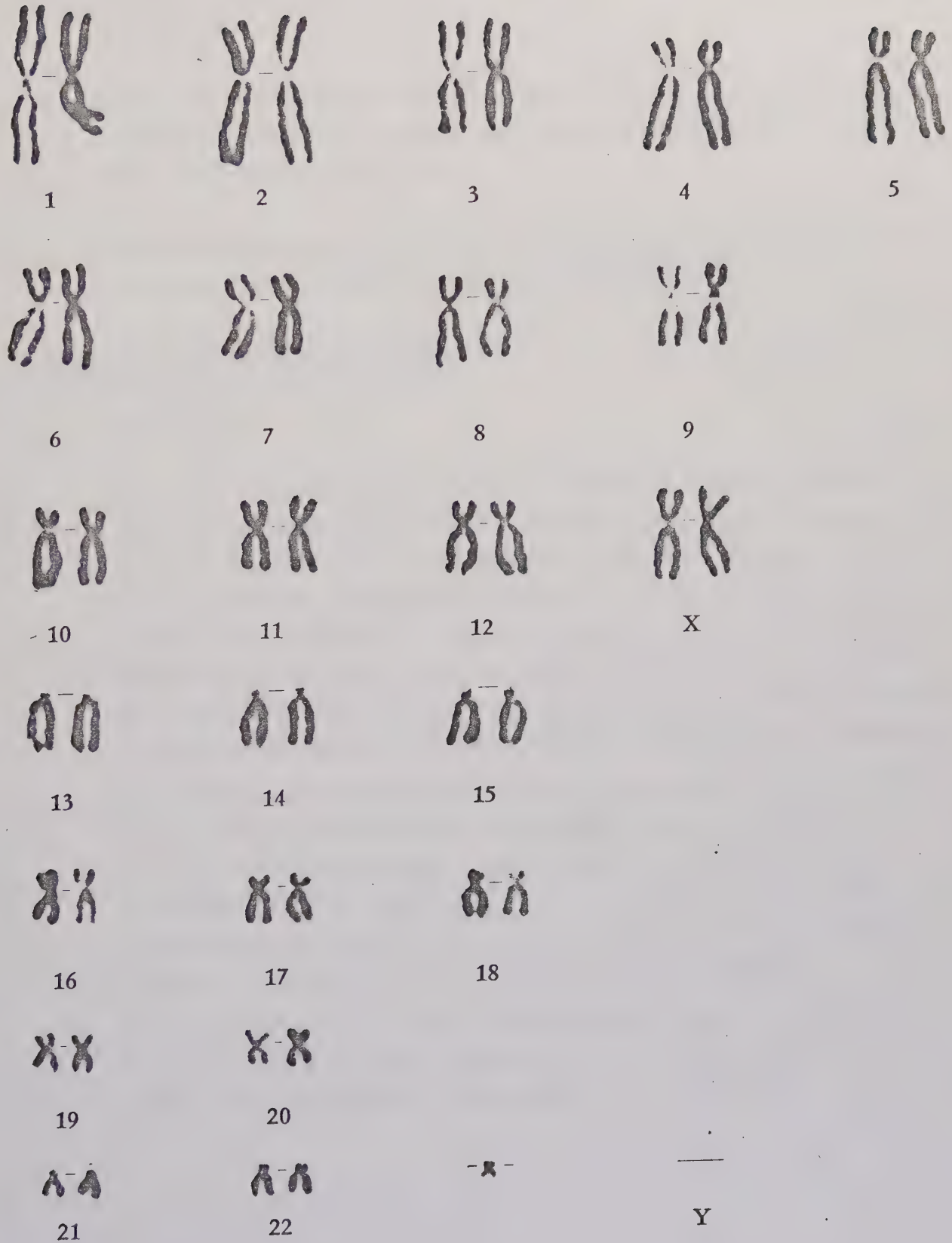


Photo VII : Fragment surnuméraire en mosaïque chez la mère (LA 38 et LA 109) caryotype standard -

ANTECEDENT DE TRISOMIE LIBRE

(tableau C)

Dans les 14 observations où l'existence d'une trisomie libre dans les antécédents avait conduit les couples à demander une amniocentèse, le caryotype était normal.

Pour ces couples particulièrement anxieux la grossesse a pu se poursuivre dans d'excellentes conditions psychologiques.

DEROULEMENT ANORMAL DE LA GESTATION

(tableau D)

En ce qui concerne les quelques cas de déficit hormonal étudiés jusqu'alors, nous avons également trouvé 10 caryotypes normaux. Nous avons groupé dans cette catégorie deux types d'indications : les unes avec un effondrement précoce (8 à 12 ème semaine) et transitoire pour lesquelles le risque d'anomalie chromosomique serait très élevé ; les autres avec un déficit hormonal moins caractérisé mais pour lesquelles une étude cytogénétique même tardive peut aider l'obstétricien dans ses décisions thérapeutiques en fin de grossesse.

Pour l'une de ces observations (LA 56), l'existence d'une prolanurie très importante au début de la grossesse, alors que les bruits du coeur foetal étaient perçus a fait évoquer une môle embryonnée. L'amniocentèse a donc été décidée pour rechercher une triploïdie. Le caryotype de l'enfant était 46 XY. Naissance d'un garçon normal à terme. L'examen du placenta n'a montré aucune anomalie.

Pour les autres cas, il est à noter que deux de ces observations à caryotype normal se sont terminées par la naissance d'un enfant malformé avec mort néonatale (observations LA 12 et LA 69).

MALADIES RECESSIVES LIEES AU SEXE

(tableau E)

Elles ne seront mentionnées ici que parce qu'elles font appel à la même technique.

En effet, la seule méthode fiable de détermination précoce du sexe foetal repose sur l'établissement du caryotype. Nous avons vu au chapitre des indications, les problèmes posés par le diagnostic prénatal dans les maladies récessives liées à l'X.

Les quelques observations que nous avons étudiées seront seulement résumées par le tableau suivant :

7	*myopathies*	*5 garçons : 4 interruptions*
2	*maladies de Hunter*	*2 filles*
1	*diabète familial néonatal*	*1 fille*
1	*déficit en ornithine carbamyl - transférase*	*1 garçon : interruption*
1	*dysplasie ectodermique*	*1 fille*
1	*hémophilie (père hémophile)*	*1 fille porteuse : interruption*

RESULTATS DANS D'AUTRES CENTRES

Le tableau VII (d'après A. BOUE 1973) (10) regroupe les résultats du diagnostic chromosomique sur plus de 2.500 amniocentèses aux Etats Unis.
La dernière colonne résume les résultats des deux centres parisiens : les résultats de cette étude ont été joints à ceux du laboratoire du Pr BOUE.

Ces résultats sont concordants d'une étude à l'autre et montrent que la majorité des diagnostics intra-utérins des anomalies chromosomiques concerne le dépistage de la trisomie 21 chez les mères âgées ou ayant déjà donné naissance à un enfant mongolien.

Comme nous l'avons déjà souligné, le nombre d'anomalies dépistées dans ces cas est plus élevé que ne le montraient les enquêtes faites sur les enfants à la naissance. La fréquence de la trisomie 21 atteint dans cette étude 2,41 % lorsque l'âge maternel est supérieur à 40 ans et 1,13 % lorsqu'il existe une trisomie au cours d'une grossesse précédente. Les premiers résultats français semblent confirmer cette tendance.

TABLEAU VII

INDICATIONS	9 centres (NADLER)		34 centres (VALENTI)		2 centres (Paris)	
	Nb. Examens	Atteints	Nb. Examens	Atteints	Nb. Examens	Atteints
anomalie chromosomique chez les parents	93	17	97	19	32	2
âge maternel ≥ 40 ans	347] 602	9] 13	535	10	156	6
35 à 39 ans	255]	4]				
antécédent trisomie 21 ou autres	485	5	521	7	57	—
maladie recessive liée au sexe	115	(54)	102	(40)	26	(14)
total	1295		1255		271	

CONCLUSIONS

A la suite des travaux faits à l'étranger depuis 1966 soulignant l'intérêt des cultures de cellules amniotiques dans le diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques, il est apparu nécessaire de mettre au point ces nouvelles techniques avec l'aide d'une équipe déjà expérimentée dans les cultures cellulaires. La mise au point de techniques adaptées à ce matériel biologique particulier a été effectuée à partir de liquides amniotiques prélevés pour d'autres raisons avec le souci majeur d'obtenir une méthode simple fiable et rapide.

C'est seulement après avoir effectué un nombre suffisant d'examens d'essai et obtenu des résultats satisfaisants et reproductibles que ces techniques ont été appliquées à des grossesses où il existait un risque élevé d'anomalie chromosomique.
L'analyse des résultats obtenus dans ces premières recherches d'anomalies chromosomiques au cours de grossesses à haut risque permet de préciser nos possibilités actuelles de diagnostic prénatal.

Pour ces 125 observations, l'étude cytogénétique du liquide amniotique a autorisé, dans la grande majorité des cas le déroulement normal de la grossesse dans d'excellentes conditions psychologiques et a permis la naissance d'un enfant dans des familles où la crainte d'un accident ou d'un nouveau drame interdisait jusque là tout espoir.
L'analyse de ces observations souligne les précautions indispensables à prendre avant de poser l'indication d'une amniocentèse pour le diagnostic prénatal d'une anomalie chromosomique.

Les conditions pratiques d'application du diagnostic prénatal seront donc envisagées avant de conclure sur les possibilités d'extension de cette technique.

CONDITIONS PRATIQUES D'APPLICATION DU DIAGNOSTIC PRENATAL

Un certain nombre de conditions sont à réunir avant d'envisager une amniocentèse pour le dépistage prénatal d'une anomalie chromosomique.

1. *Consultation et enquête génétique pour décider de la ponction amniotique*

Cette première consultation doit avoir lieu de plus tôt possible avant la conception ou tout au moins dès que la grossesse est connue. Elle doit permettre :

- *de faire l'enquête génétique complète*
- *de s'assurer du bien fondé de l'indication compte tenu du contexte psychologique*
- *de faire les études cytogénétiques familiales nécessaires et en particulier lors des anomalies de structure chromosomique, un nouveau caryotype doit nécessairement être fait à l'aide des techniques d'identification chromosomique utilisées par le laboratoire*
- *d'informer le plus complètement possible les parents sur la technique utilisée avec ses possibilités et ses limites.*

Cette information des couples apparait essentielle. Le risque génétique, et les limites du diagnostic chromosomique seront précisés en expliquant qu'il existe d'autres malformations qui ne sont pas décelables par l'étude du caryotype. Les dangers de la ponction amniotique avec au premier plan le risque d'avortement, seront clairement énoncés.

Les conséquences d'un tel examen doivent être abordées d'emblée. En effet, si dans la majorité des cas, un caryotype normal permet de rassurer les parents, l'éventualité d'une interruption de grossesse en cas d'anomalie chromosomique doit être envisagée. Il est peu raisonnable de faire un tel examen par simple curiosité scientifique.

Les couples doivent savoir avant la ponction que l'interruption de grossesse sera possible, s'ils la désirent, et quels en sont les risques.

A la suite de cette consultation, la décision de l'amniocentèse sera prise par le couple après sa complète information et sans lui être imposée.

2. *Prise en charge de la grossesse*

La grossesse sera prise en charge par l'obstétricien et le cytogénéticien afin de suivre son début sur le plan clinique et hormonal et de fixer le moment opportun pour l'amniocentèse après localisation placentaire.

3. *Etablissement d'un dossier de diagnostic prénatal*

Un dossier complet de diagnostic prénatal sera établi, comportant :

- *les antécédents familiaux et obstétricaux*
- *les données cytogénétiques familiales*
- *les éléments de surveillance de la grossesse*
- *les conditions de l'amniocentèse en précisant la qualité et l'aspect du liquide prélevé*
- *les techniques de laboratoire et leurs résultats*
- *le déroulement ultérieur de la grossesse et son issue*
- *la confirmation du diagnostic*
- *l'examen clinique complet de l'enfant à la naissance et à plus long terme.*

Tous ces renseignements, rassemblés, devront permettre d'établir un registre des diagnostics intra-utérins, regroupant plusieurs centres, afin de mettre en place les éléments d'une étude prospective. En effet, seule cette étude permettra de tirer les conclusions nécessaires pour éventuellement élargir les indications du diagnostic intra-utérin, en appréciant au mieux :

- *le succès de la technique et la fiabilité du résultat*
- *les accidents de l'amniocentèse : en particulier, seule une étude plus poussée permettra d'évaluer avec précision le risque d'avortement*
- *l'incidence de l'amniocentèse sur l'état à long terme des enfants (en particulier croissance et développement psycho-moteur)*
- *les risques pour la mère d'une interruption de grossesse tardive.*

AVENIR DU DIAGNOSTIC PRENATAL

Les résultats de cette étude montrent, comme les travaux antérieurs que le diagnostic intra-utérin des anomalies chromosomiques est techniquement possible de façon fiable.

L'intérêt d'une telle technique est évident dans les familles transmettant une anomalie chromosomique. Ce groupe représente un très petit nombre d'indications. J.H. EDWARDS (25) estime que pour les translocations, il y aurait un diagnostic prénatal par mois et par million d'habitants soit 600 indications par an pour la France (10).

Le problème du dépistage de la trisomie 21 est beaucoup plus important du fait de la plus grande fréquence de l'affection. En effet, la trisomie 21 est l'affection la plus fréquente dans les institutions pour débiles mentaux et atteint environ 30 % de l'ensemble des retards mentaux sévères aux U.S.A. et en Europe occidentale (114).

Le diagnostic prénatal appliqué aux mères de plus de 40 ans pourrait réduire du quart l'ensemble des trisomies 21. C'est dire l'intérêt d'une telle technique appliquée à ce groupe d'âge. Ainsi, toute femme après 40 ans doit être avertie à la fois du risque de mettre au monde un enfant trisomique 21 et des possibilités diagnostiques qui existent actuellement.

La moitié des enfants mongoliens naissent de mères de plus de 35 ans. L'extension de cette technique aux femmes de 35 à 39 ans devrait pouvoir être faite dans un proche avenir si les moyens en sont donnés aux centres de diagnostic prénatal.

Son application systématique à toutes les femmes ne parait pas pouvoir être envisagée actuellement à la fois pour des raisons économiques et techniques : le risque de la ponction amniotique est inférieur au risque de voir naitre un enfant trisomique 21 chez une femme après 40 ans. Par contre, le danger de l'amniocentèse n'est pas encore précisé pour pouvoir l'appliquer aux autres groupes d'âge.

Pourra-t-on dans un avenir plus lointain transformer cette technique de diagnostic en un dépistage systématique au même titre que le dépistage et la prévention de la phénylcétonurie ?
Un programme de santé publique appliqué à de nombreuses femmes impose d'évaluer les dangers des techniques, la spécificité et la sensibilité des examens, les risques pour la mère d'une interruption de grossesse, le résultat sur la baisse de la fréquence de la maladie, le coût et les avantages pour la communauté.
De telles mesures ont déjà été envisagées par Z. STEIN et col. (114) qui proposent dans ce but un programme en 5 phases pour la ville de New York.

-=-=-=-=-=-=-=-

Les problèmes éthiques sont des problèmes individuels qui dépendent de la position de chacun vis à vis de l'avortement provoqué. Par contre, l'utilisation de telles techniques de prévention reste soumise aux dispositions législatives en vigueur dans un pays donné : elles pourront se développer dans les pays où l'interruption volontaire de grossesse est libre ou admise lorsqu'une anomalie grave du foetus est reconnue.

Le dépistage prénatal par amniocentèse des anomalies chromosomiques amélioré sans cesse grâce aux progrès des techniques de culture cellulaire et des techniques cytogénétiques va devenir progressivement une méthode de routine. Cette méthode pratiquée à bon escient dans des centres spécialisés permettra de prévenir la naissance d'enfants malformés et surtout, de préserver une grossesse désirée ou de mener à terme une gestation sans inquiétude.

RESUME DES OBSERVATIONS

TABLEAU A : ANOMALIE CHROMOSOMIQUE TRANSMISE PAR LES PARENTS

TABLEAU B : AGE MATERNEL

TABLEAU C : ANTÉCÉDENT DE TRISOMIE LIBRE

TABLEAU D : GROSSESSE PATHOLOGIQUE

TABLEAU E : MALADIE RECESSIVE LIÉE AU SEXE

TABLEAU A : ANOMALIE CHROMOSOMIQUE TRANSMISE

PAR LES PARENTS

N°	Age	INDICATION	DUREE DE L'AMENORRHEE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE REPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
A 13	30 ans	Mère 45XX t(13q-14q)	18 s	clair	22 j	45XY t(13q-14q)	Garçon normal à terme : 45XY t(13q-14q)
A 38	27 ans	Fragment surnuméraire en mosaïque chez la mère	24 s	clair	18 j	46XX	Fille normale à terme
A 109	28 ans	Idem - 2 ème grossesse	18 s	clair	13 j	46XX	Fille normale à terme
A 49	29 ans	Mère : 45XX t(21q- D)	1) 16 s 2) 19 s	clair sang ++	Echec 14 j	45 XX t(21-D)	Fille normale à terme
A 50	31 ans	Mère : 46XX t(13q-14q)	18 s	clair		46XX	Fille normale à terme
A 90	27 ans	Mère : 46XX t(13q-14q)	19 s	clair	23 j	45XX t(13q-14q)	Garçon normal à terme
A 130	31 ans	Père : 45XY t(21q-13q)	18 s	clair	22 j	46XY	n'a pas encore accouché

TABLEAU B : AGE MATERNEL

N°	AGE	INDICATION	DUREE DE L'AMENORRHEE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE REPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
LA 10	39 ans	Age + tri.21 antérieure	17 s	clair	20 j	46 XX	Fille normale à terme
LA 14	42 ans	Age + 3F.C.S.	19 s	clair	17 j	46 XY	Garçon normal à terme
LA 21	42 ans	Age	16 s	clair	15 j	46 XY	Garçon normal à terme 3100 g.
LA 31	46 ans	Age	17 s	clair	22 j	46 XX	Fille normale à terme 2900 g.
LA 34	43 ans	Age	22 s	clair	14 j	46 XX	Fille normale à terme 3300 g
LA 36	42 ans	Age+ 1 polymalformé	31 s	clair	28 j	46 XYGp+	Garçon normal à terme
LA 39	43 ans	Age + 6F.C.S. (béance du col)	18 s	clair	20 j	46 XX	Avortement spontané un mois après l'amniocentèse
LA 45	41 ans	Age	19 s	clair	ECHEC		
LA 46	40 ans	Age	1) 18 s 2) 21 s	clair clair	ECHEC 23 j	46 XY	Garçon normal à terme 3040 g.
LA 47	40 ans	Age	18 s	clair	41 j	46 XY	Garçon normal à terme 3700 g.
LA 48	40 ans	Age	17 s	clair	30 j	46 XX	
LA 51	44 ans	Age + incompatibilité Rh sévère (10 ème grossesse)	17 s	clair	21 j	46 XX	avortement spontané 3 semaines après l'amniocentèse
LA 53	39 ans	Age	22 s	clair	19 j	46 XY	Garçon normal à terme
LA 54	39 ans	Age	18 s	clair	25 j	46 XY	
LA 55	43 ans	Age	15 s	sang traces	20 j	47 XY 21 +	INTERRUPTION Foetus : 47 XY 21 +
LA 59		Age	18 s	clair	19 j	46 XY	Garçon normal à terme

N°	AGE	INDICATION	DUREE DE L'AMENORRHEE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE REPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
LA 60	39 ans	Age	16 s	clair	20 j	46 XX	Fille normale à terme
LA 61	41 ans	Age + Tri.21 antérieure	16 s	clair	20 j	46 XX	Fille normale à terme
LA 62	41 ans	Age	20 s	clair	14 j	47 XX 21+	INTERRUPTION Foetus : 47XX 21+
LA 65	43 ans	Age	18 s	Clair	23 j	46 XY	Garçon normal 2950 g.
LA 66	40 ans	Age	17 s	clair	22 j	46 XY	Garçon normal à terme
LA 69	41 ans	Age	18 s	clair	26 j	46 XY	Garçon normal à terme
LA 73	44 ans	Age	17 s	clair	23 j	46 XY	
LA 74	42 ans	Age	16 s	clair	19 j	46 XY	
LA 75	43 ans	Age + ant. Spinabifida- αfoeto protéines normales	16 s	clair	33 j	46 XY	Avortement spontané un mois après la ponction
LA 77	41 ans	Age	17 s	clair	36 j	46 XX	Fille normale à terme 3450 g
LA 78	37 ans	Age	17 s	sang +++	ECHEC		Garçon normal à terme 3200 g
LA 79	42 ans	Age	17 s	clair	33 j	46 XY	Garçon normal à terme 3300 g
LA 80	41 ans	Age	17 s	clair	30 j	46 XX	Fille normale - mort apparente à la naissance - réanimée -
LA 81	40 ans	Age	19 s	clair	24 j	46 XY	Garçon normal à terme 3020 g.

N°	AGE	INDICATION	DURÉE DE L'AMNIOTOMIE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE RÉPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
LA 82	42 ans	Age	22 s	clair	23 j	46 XX	fille normale à terme 3250 g
LA 83	41 ans	Age	20 s	sang+++	ECHEC		fille normale à terme
LA 84	45 ans	Age	16 s	clair	21 j	46 XX	fille normale à terme
LA 86	42 ans	Age	18 s	clair	26 j	46 XX	fille normale à terme
LA 87		Age	17 s	clair	27 j	46 XX	fille normale à terme
LA 88	43 ans	Age	21 s	clair	26 j	46 XY	garçon normal 2600 g
LA 92	41 ans	Age	15 s	sang+++	ECHEC		garçon normal à terme
LA 93	38 ans	Age	18 s	clair	28 j	46 XX	fille normale à terme 3390 g
LA 94	40 ans	Age	18 s	clair	24 j	46 XY	garçon normal à terme 3020 g
LA 95	42 ans	Age	16 s	clair	23 j	47XXY	garçon à terme
LA 96	41 ans	Age	16 s	clair	21 j	46 XY	garçon normal à terme
LA 97		Age	16 s	clair	28 j	46 XY	garçon normal à terme
LA 98	43 ans	Age	16 s	clair	21 j	46 XX	fille prématurée 2560 g.
LA 99	40 ans	Age	18 s	clair	16 j	46 XY	

N°	AGE	INDICATION	DUREE DE L'AMNIOCENTESE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE RESULTAT	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
LA 100	41 ans	Age	18 s	clair	20 j	46 XX	fille normale à terme
LA 101	40 ans	Age	18 s	clair	19 j	46 XY	avortement à 27 semaines garçon 1000 g. omphalocèle
LA 102	42 ans	Age	20 s	sang+	23 j	46 XX	
LA 103	44 ans	Age	15 s	clair	19 j	46 XX	
LA 104	39 ans	Age + 4F.C.S.	15 s	clair	18 j	45XYt(13q-14q)	garçon normal à terme
LA 105		Age	19 s	clair	32 j	46 XX	fille normale à terme 3240 g
LA 107	42 ans	Age+irradiation Rx à 14 et 16 semaines	25 s	clair	15 j	46 XY	garçon normal à terme
LA 108	38 ans	Age + Tri.21 antérieure	18 s	clair	33 j	46 XX	
LA 110	38 ans	Age	15 s	sang+	20 j	46XX	fille normale à terme
LA 111	37 ans	Age	18 s	sang+	33 j	46 XY	garçon normal à terme 3670 g
LA 113	42 ans	Age	18 s	clair	21 j	46 XX	
LA 115	40 ans	Age	16 s	clair	20 j	46 XX	
LA 116	38 ans	Age + Tri.21 antérieure	1) 20 s	clair	ECHEC		
LA 116			2) 23 s	clair	23 j	46 XX	
LA 122	38 ans	Age+1 enfant débile (accident obstétrical)	18s	sang+	17 j.	46 XY	

N°	AGE	INDICATION	DUREE DE L'AMENORRHEE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE REPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
LA 123	42 ans	Age	19 s	brun rougeâtre	21 j	46 XY	avortement spontané de lendemain de l'amniocentèse
LA 124	43 ans	Age	18 s	clair	20 j	46 XX	fille normale à terme
LA 125	37 ans	Age	18 s	clair	21 j	46 XY	
LA 126	41 ans	Age	18 s	clair	21 j	46 XX	
LA 128	44 ans	Age + 1 mort né 1 polymalformé décédé	28 s	sang++	26 j	46 XY	garçon mort né à 36 semaines (procidence du cordon)
LA 129	39 ans	Age	19 s	clair	22 j	46 XY	
LA 131	40 ans	Age	18 s	clair	19 j	46 XX	
LA 132	43 ans	Age	19 s	clair	20 j	46 XX	
LA 133	40 ans	Age	19 s	sang+	20 j	46 XX	
LA 134	43 ans	Age + 3 F.C.S.	21 s	clair	16 j	46 XX	
LA 136	41 ans	Age	15 s	clair	21 j	46 XX	
LA 137	42 ans	Age	16 s	clair	15 j	46 XX	
LA 142	38 ans	Age	21 s	clair	18 j	46 XX	
LA 143	37 ans	Age	19 s	clair	21 j	46 XY	

N°	AGE	INDICATION	DUREE DE L'AMENORRHEE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE REPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
A 146	42 ans	Age + 1 neveu tri 21	25 s	clair	13 j	46 XX	
LA 147	44 ans	Age	18 s	clair	23 j	46 XY	
LA 150	41 ans	Age	16 s	clair	17 j	46 XY	
LA 151	39 ans	Age	16 s	clair	24 j	46 XX	
LA 152	43 ans	Age	18 s	clair	21 j	46 XY	
LA 154	44 ans	Age	20 s	clair	17 j	46 XX	accouchement 30 semaines - fille 1740 g. sans malformation
LA 155	40 ans	Age	25 s	clair	21 j	46 XY	
LA 156	40 ans	Age	20 s	clair	21 j	46 XX	
LA 157	42 ans	Age	18 s	clair	25 j	46 XY	

TABLEAU C : ANTECEDENT DE TRISOMIE LIBRE

N°	AGE	INDICATION	DUREE DE L'AMENORRHEE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE REPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
A 18	25 ans	Trisomie C antérieure	18 s	clair	24 j	46 XY	Garçon normal à terme
A 25	22 ans	Trisomie 21 antérieure	21 s	clair	14 j	46 XY	Garçon normal à terme 3500 g
A 42	23 ans	antécédent d'anomalie chromosomique : fragment surnuméraire	20 s	clair	16 j	46 XY	Garçon normal à terme
A 58	30 ans	Trisomie 21 antérieure	17 s	clair	19 j	46 XX	Fille normale à terme
A 64	23 ans	mère = 1 frère tri.21 libre- 1 neveu tri. 21 libre	17 s	brun verdâtre	27 j	46 XX	
A 70	29 ans	trisomie 21 antérieure	22 s	clair	27 j	46 XX	fille normale à terme
A 112	25 ans	Trisomie 21 antérieure	27 s	clair	28 j	46 XY	garçon normal à terme 3350 g
A 114	26 ans	Trisomie 21	20 s	clair	ECHEC		
A 120	25 ans	nièce : trisomique 21	18 s	clair	28 j	46 XX	
A 127	29 ans	trisomie 21 antérieure	19 s	clair	20 j	46 XY	
A 135	34 ans	Trisomie 21 antérieure	17 s	clair	27 j	46 XX	
A 140		Trisomie 21 antérieure	18 s	clair	17 j	46 XY	
A 144	27 ans	Trisomie 21 antérieure	22 s	clair	17 j	46 XY	
A 149		Trisomie 21 antérieure	16 s	clair		46 XY	

TABLEAU D : GROSSESSE PATHOLOGIQUE

N°	AGE	INDICATION	DUREE DE L'AMENORRHEE	ASPECT DU LIQUDE	DELAI DE REPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
A 12	38 ans	hypotrophie foetoplacentaire	36 s	clair		46 XY	césarienne [illegible] décédé à la naissance
A 28	30 ans	dosages hormonaux bas	32 s	clair	23 j	46 XY	garçon à terme sténose du pylore
A 29		hypotrophie foetale dosages hormonaux bas	25 s	clair	17 j	46 XY	garçon normal à terme 2900 g.
A 56	29 ans	prolans très élevés évoquant une triploïdie	18 s	clair	19 j	46 XY	garçon normal à terme-placenta normal
A 63	41 ans	Age hydrammios microcéphalie à la radio	35 s	clair		46 XY	accouchement à 36 semaines d'un garçon mort né polymalformé
A 67	27 ans	metrorragies menace de F.C à 10 semaines	15 s	clair	26 j	46 XX	fille normale à terme
A 72	29 ans	hypotrophie foeto-placentaire	28 s	sang+	24 j	46 XY	garçon prématuré 2350 g
A 139	28 ans	metrorragies + dosages hormonaux bas	17 s	brun vert	20 j	46 XX	
A 141	30 ans	dosages hormonaux bas	19 s	clair	28 j	46 XY (Yq-)	garçon normal à terme 3500 g.
A 145	31 ans	métrorragies	23 s	brun foncé	25 j	46 XY	garçon normal à terme 2950 g.

TABLEAU E : MALADIE RECESSIVE LIEE AU SEXE

N°	AGE	INDICATION	DUREE DE L'AMENORRHEE	ASPECT DU LIQUIDE	DELAI DE REPONSE	DIAGNOSTIC	ISSUE DE LA GROSSESSE
A 19		myopathie de Duchenne	16 s	clair	30 j	46 XY	INTERRUPTION
A 22	22 ans	myopathie de Duchenne	19 s	clair	13 j	46 XY	INTERRUPTION
A 24		myopathie de Duchenne	18 s	clair	20 j	46 XX	fille normale à terme 3600 g
A 37	20 ans	myopathie de Duchenne	17 s	clair	16 j	46 XY	pas d'interruption garçon à terme
A 40	32 ans	diabète familial néo-natal lié au sexe	23 s	clair	16 j	46 XX	fille normale à terme
A 57	27 ans	maladie de Hunter	17 s	clair	24 j	46 XX	fille normale à terme
A 68	27 ans	déficit en ornithine carbamyl transferase	17 s	clair	16 j	46 XY	INTERRUPTION Etude biochimique du foetus garçon sain
A 76	38 ans	myopathie de Duchenne	17 s	clair	15 j	46 XX	fille normale à terme
A 89	26 ans	père hémophile	18 s	clair	15 j	46 XX	INTERRUPTION
A 106	21 ans	myopathie de Duchenne	17 s	clair	29 j	46 XY	INTERRUPTION
A 119	38 ans	maladie de Hunter	16 s	clair	16 j	46 XX	fille normale à terme
A 121	23 ans	myopathie de Duchenne	19 s	sang+	21 j	46 XY	INTERRUPTION
A 138	27 ans	dysplasie ectodermique	18 s	clair	18 j	46 XX	n'a pas encore accouché

B I B L I O G R A P H I E

1 - ALLAN L.D., FERGUSSON SMITH M.A., DONALD I., SWEET E.M., GIBSON A.A.M.
Amniotic fluid alphafetoprotein in the antenatal diagnosis of spina bifida.
Lancet, 1973, 2, 522-525.

2 - AMAROSE A.D., WALLINGFORD A.J., PLOTZ E.J.
Prediction of fetal sex from cytologic examination of amniotic fluid.
New Engl. J. Med., 1966, 275, 715.

3 - AULA P., KARJALAINEN O.
Prenatal karyotype analysis in high risk families.
Ann. Clin.Res., 1973, 5 (3), I42-I48.

4 - BAIN A.D., SUTHERLAND G.R.
Antenatal screening for Down's syndrome.
Lancet,1973, I (800), 423.

5 - BARNES A.C.
Fetal indications for therapeutic abortion.
Annu. Rev.Med., 1971, 22, 133-144.

6 - BARR M.L., BERTRAM E.G.
A morphological distinction between neurones of the male and the female and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis.
Nature, I949, I63, 676-677.

7 - BENSON P.F.
Antenatal detection of genetic defect.
Proc. R. Soc.Med., I97I, 64, II37-II39.

8 - BERGER R.
Notion d'anomalie chromosomique dans la famille.
IIIème Journées Nationales de la Société Française de Médecine Périnatale (Monaco I973), p. 83-88, Librairie Arnette, Paris I974.

9 - BLOOM A.D., SCHMIKEL R., BARR M., BURDI A.R.
Prenatal detection of autosomal mosaicism.
J. Pediat. I974, 84(5), 732-733.

IO - BOUE A.
Le diagnostic prénatal par amniocentèse.
IIIèmes Journées Nationales de la Société Française de Médecine Périnatale (Monaco I973), p.I05-II4., Librairie Arnette, Paris I974.

II - BOUE J.
Anomalies chromosomiques dans les avortements spontanés.
III èmes Journées Nationales de la Société Française de Médecine Périnatale (Monaco I973), p. 59-67, Librairie Arnette, Paris I974.

I2 - BOUE J., BOUE A.
L'intérêt en diagnostic prénatal des techniques nouvelles d'identification chromosomiques dans les translocations et une aneusomie de recombinaison.
Nouvelle Presse Med., I973, 2, 3097-3I0I.

I3 - BUTLER L.J., REISS H.E.
Antenatal detection of chromosome abnormalities.
J. Obst. Gyn. Brit. Common W., I970, 77, 902-907.

I4 - BUTLER L.J., REISS H.E., FRANCE N.E., BRIDDON S.
Antenatal diagnosis of Patau's syndrome (trisomy I3) including a detailed pathological study of the fetus.
J. Med. Genet., I973, IO (4), 367-700.

I5 - BURTON B.K., GERBIE A.B., NADLER H.L.
Present status of intrauterine diagnosis of genetic defects.
Am.J.Obstet.Gynecol., I974, II8 (5), 7I8-746.

I6 - CARTER C.O.
Genetic counselling and prenatal diagnosis.
Midwives Chron., I974, 87 (34) ,88-90.

I7 - CASPERSON T., ZECH L., MODEST E.J.
Identification of human chromosomes by DNA binding fluorescent agents.
Chromosoma , I970, 30/2, 2I5-227.

I8 - CEDERQUIST L.L., FUCHS F.
Antenatal sex determination (a historical review).
Clin Obst.Gynec., I970, I3 (I), I59-I77.

I9 - CEDERQUIST L.L., FUCHS F.
Intrauterine diagnosis of genetic disorders.
Nord Med., I97I, 86/35, IOI7-I022.

20 - DANCIS J.
The antepartum diagnosis of genetic defects.
J. Pediat., I968, 72, 30I-302.

2I - DANCIS J.
Prenatal detections of hereditary defects.
Hosp. Practice., I969, 4, 37.

22 - DORFMAN A. Editor
Antenatal diagnosis.
Chicago I972, University of Chicago Press.

23 - DUTRILLAUX B., LEJEUNE J.
Etude de la descendance des porteurs d'une translocation t(21 q - D q)
Ann. Génét., I969, I2, 77-82.

24 - EBBIN A.J., WILSON M.G., TOWNER J.W., SLAUGHTER J.P.
Prenatal diagnosis of an inherited translocation between chromosomes N° 9 and I9.
J. Med. Genet., I973, IO (I), 65-69.

25 - EDWARDS J.H.
Uses of amniocentesis.
Lancet, I970, I, 608-609.

26 - EMERY A.E.H., WATT M.S., CLACK E.R.
The effects of genetic counselling in Duchenne muscular dystrophy.
Clin Genet., I972, 3 (2), I47-I50.

27 - EMERY A.E. and coll.
Amniotic fluid composition in malformation of the central nervous system.
J. Obstet. Gyn. Brit. Common W., I972, 79, I54-I58.

28 - EMERY A.E.H.
Prevention and control of genetic disease.
J.R. Coll. Physicians ;Lond , I974, 8(2),IO7-II4.

29 - EPSTEIN C.J., SCHNEIDER E.L., CONTE F.A., FRIEDMAN S.
Amer. J. Hum. Genet., I972, 24/2, 2I4-226.

Prenatal detection of genetic disorders.

30 - FINLEY W.H., FINLEY S.C.
The use of prenatal diagnosis in genetic counselling.
Ala.J. Med.Sci., I973, IO (4), 373-376.

3I - FORT A.T.
Prenatal intrusion into the amnion (A review of the diagnosis, therapeutic and research results).
Am.J. Obst.Gynec., I97I, IIO, 432-455.

32 - FUCHS F.
Volume of amniotic fluid at various stages of pregnancy.
Clin. Obst. Gynec., I966, 9, 449-460.

33 - FUCHS F.
Genetic information from amniotic fluid constituents.
Clin. Obst. Gynec., I966, 9, 565-573.

34 - FUCHS F., CEDERQUIST L.L.
Recent advances in antenatal diagnosis by amniotic fluid analysis.
Clin. Obst. Gynec., I970, I3 (I), I78-20I.

35 - FUCHS F., RIIS P.
Antenatal sex determination.
Nature, I956, I77, 330.

36 - FUCHS F., RIIS P.
Antenatal detection of hereditary diseases.
Acta Genet. (Basel), I956, 6, 26I.

37 - GALJAARD H.J.A., HODOVA M., NIERMIJER M.F.
Possibilités et limitations dans le diagnostic prénatal des maladies génétiques.
Brux. Med., I972, 52, IO9-I2I.

38 - GARDNER H.A., RUDD N.L., BENZIE R.J.
Confirmation of antenatally detected trisomy D from saline absorted products of conception.
Lancet, I974, I (860), 75I.

39 - GERBIE A.B., MELANCON S.B., RYAN C., NADLER H.L.
Cultivated epithelial like cells and fibroblasts from amniotic fluid Their relationship to enzymatic and cytologic analysis.
Am.J.Obstet.Gynec., I972, II4 (3), 3I4-320.

40 - GERBIE A.B., NADLER H.L., GERBIE M.V.
Amniocentesis in genetic counselling (safety and reliability in early pregnancy).
Am.J.Obstet.Gynec., I97I, I09, 765-770.

4I - GERTNER M., HSU L.Y.F., MARTIN J., HIRSCHORN K.
The use of amniocentesis for prenatal genetic counselling.
Bull.N.Y. Acad.Med., I970, 46, 9I6-92I.

42 - GIRARD S., RABINEAU D., SCHRAMM B.
Culture des cellules amniotiques après amniocentèse : Mise au point des techniques.Analyse des résultats des premières observations de diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques.
J. Gyn.Obst.Biol.Repr., I974, 3, 5-I2.

43 - GLOBUS M.S., CONTE F.A., SCHNEIDER E.L., EPSTEIN C.J.
Intrauterine diagnosis of genetic defects: results , problems and follow up of one hundred cases in a prenatal genetic detection center.
Am.J.Obstet.Gynec., I974, II8 (7), 897-905.

44 - GOODNER D.M.
Antenatal diagnosis of genetic defects.
J. Reprod.Med., I973, IO, 26I-268.

45 - GOODLIN R.C.
Fetal blood sampling .
Lancet, I974, I, 357.

46 - GORDON G., SUTHERLAND G.R., BAULD R., BAIN A.D.
The antenatal diagnosis of trisomy I8.
Clin.Genet., I974, 5 (2), IIO-II2.

47 - GRAY C., DAVIDSON R.G., COHEN M.M.
A simplified technique for the culture of amniotic fluid cells.
Pediatrics , I97I, II9-I22, 79.

48 - HAHNEMANN N., EIBERG H.
Antenatal genetic diagnosis in a kindred with a I5 p. plus chromosome.
Clin.Genet., I973, 4 (6), 464-473.

49 - HAMERTON J.L.
Human cytogenetics.
2 vol. Academic Press, New York, I97I.

50 - HELLER R.H.
Prenatal diagnosis and the prevention of birth defects.
Md. State Med.J., I97I, 20, 59-62.

5I - HELLMAN L.M., KOBAYASHI M., CROMB E.
Ultrasonic diagnosis of embryonic malformations.
Am.J.Obstet.Gynec., I973, II5(5), 6I5-623.

52 - HENRION R.
L'amniocentèse précoce. Technique, indications, incidents, accidents.
Journées Parisiennes de Pédiatrie, I972, p. 22-3I, Flammarion edit., Paris I972.

53 - HENRION R., CHAVINIE J., LIPSZYC D.
L'amniocentèse précoce.
Nouv. Presse Med., I974, 3, 265I-2656.

54 - HOLTZMAN N.A.
Prevention of retardation of genetic origin.
Pediatr.Clin. North Am., I973, 20(I), I5I-I58.

55 - HOWELL R.R.
Prenatal diagnosis in the prevention of handicapping disorders.
Pediatr. Clin. North Am., I973, 20(I), I4I-I49.

56 - HOYES A.D.
Amniotic cell culture.
Brit. Med.J., I97I, 4, 297.

57 - HUGHES D.T., RINK E., GRIFFITHS S.
Fetal karyotype from amniotic cells without culturing.
Lancet I97I, 2, I3I9.

58 - HSU L.Y., STRAUSS L., DUBIN E., HIRSCHORN K.
Prenatal diagnosis of trisomy I8. Pathologic findings in 20 weeks conceptus.
Am.J.Dis.Child., I973, I25(2), 290-292.

59 - HSU L.Y.
Results and pitfalls in prenatal cytogenetic diagnosis.
J.Med. Genet., I973, IO, II2-II9.

60 - IINUMA K., NAKAGONE Y., MATSUI I.
21 Trisomy and prenatally diagnosed XXY in two consecutive pregnancies.
Hum. Hered., 1973, 23 (5), 467-469.

61 - JACOBSON C.B., BARTER R.H.
Intrauterine diagnosis and management of genetic defects.
Am.J.Obstet.Gynec., 1967, 99/6, 795-807.

62 - JAMES F.
Sexing fetuses by examination of amniotic fluid.
Lancet, 1956, I, 202-203.

63 - KABACK M.M, COOX R.E.
Intrauterine diagnosis of fetal disorders.
Pediatr..Univ. Tokyo., 1970, 18, 79-87.

64 - KAJII T.
Pseudomosaicism in cultured amniotic fluid cells.
Lancet, 1971, 2, 1037.

65 - KAN Y.N., VALENTI C., CARNAZZA V., GUIDOTTI R., RIEDER R.F.
Fetal blood sampling in utero.
Lancet ,1974, I(847), 79-80.

66 - KARDON N.B., CHERNAY P.R., HSU L.Y.F. and al.
Problems in prenatal diagnosis resulting from chromosomal mosaicism.
Clin. Genet (Kbh) , 1972, 3/2, 83-89.

67 - KHUDR G., BENIRSCHKE K.
Cytogenetic micromethod on fetal blood.
Gynecol. Investig., 1973, 4 (3), 172-175.

68 - KNORR-GARTNER H. and al.
A modified method of culturing human amniotic fluid cells for prenatal detection of genetic disorders.
Humangenetik, 1972, 14, 333-334.

69 - KOMROWER G.M.
The philosphy and pratice of screening for inherited diseases.
Pediatrics , 1974, 53(2), 182-188.

70 - LEJEUNE J., GAUTIER M., TURPIN R.
Etude des chromosomes somatiques chez 9 enfants mongoliens.
C.R. Aced.Sci., I959, 248/D, I72I-I722.

7I - LILIENFELD A.M., BENESCH C.H.
Epidemiology of Mongolism.
I vol., The John Hopkins Press , Baltimore I969.

72 - LITTLEFIELD J.W.
Prenatal diagnosis and therapeutic abortion.
New Engl.J.Med., I969, 280, 722-723.

73 - LITTLEFIELD J.W.
The pregnancy at risk for a genetic disorder.
New Engl.J.Med., I970, 282, 627-628.

74 - Mc CREANOR H.R.
Amniotic fluid culture and antenatal diagnosis.
N.Z.Med.J., I972, 76(485), 296-297.

75 - MACINTYRE M.N.
Professional responsability in prenatal genetic evaluation.
Birth defects ,I972, 8(4), 3I-35.

76 - MAIDMAN J.E.
Antenatal diagnosis.
Obstet.Gynec.Annu., I972, I, 65-IOI.

77 - MAKOWSKI E.L., PREM K.A., KAISER I.H.
Detection of sex of fetuses by the incidence of sex chromatin body in nuclei of cells in amniotic fluid.
Science, I956, I23, 542-543.

78 - MANNANALAL G.S.
The issue of chromosomal mosaicism in prenatal diagnosis.
J. Pediat., I972, 8I, 422-424.

79 - MARCHANT G.S.
Evaluation of methods of amniotic fluid cell culture.
Am.J.Med.Technol., I97I, 37, 39I-396.

80 - MILUNSKY, LITTLEFIELD J.W., KAUFER J.N., KOLOINY E.H., SHIH V.E.,ATKINS L.
Prenatal genetic diagnosis I, II et III.
New Engl.J. Med., 1970, 283, I - I370-I38I
II - I44I-I447
III - I498-I504

81 - MINZTER R.A., REISMAN L.E.
Prenatal chromosome studies : diagnosis in genetic defects.
Sth.Med.J. (Bgham Ala), I969, 62/IO,I220-I222.

82 - MUKHERGEE A.B., BLATTNER P.Y., NITOWSKY H.
Quinacrine Mustard fluorescence of sex chromatin in human amniotic fluid cell culture.
Nature, I972, 235, 226-229.

83 - MULCAHY M.T.
Prenatal diagnosis. Results of cytogenetic analysis of amniotic fluid cells cultures.
Med.J.Aust., I973, I, 979-982.

84 - NADLER H.L.
Antenatal detection of hereditary disorders.
Pediatrics , I968, 42, 9I2-9I8.

85 - NADLER H.L.
Patterns of enzyme development using cultivated human fetal cells from amniotic fluid.
Biocem. Genet., I968, 2, II9.

86 - NADLER H.L.
Prenatal detection of genetic defects.
J. Pediat., I969, 74,I32.

87 - NADLER H.L.
Indications for ammiocentesis in the early prenatal detection of genetic disorders.
Birth defects . Original Articles Series. New York National Foundation, vol 7, p.5-9, I97I.

88 - NADLER H.L.
Prenatal detection of inborn errors of metabolism.
Sth. Med.J. (Bgham Ala)., I97I, 64/suppl.I, 92-95.

89 - NADLER H.L., GERBIE A.B.
Role of amniocentesis in intrauterine detection of genetic disorders.
New.Engl.J.Med., I970, 282, 596-599.

90 - NADLER H.L.
Prenatal detection of genetic disorders.
Adv. Hum. Genet., I972, 3, I-37.

9I - NADLER H.L.
Intrauterine detection of genetic disorders.
Colloque sur le diagnostic antenatal des maladies métaboliques. Ed. Fondation Mérieux., Lyon I972.

92 - NELSON M.M., EMERY A.E.H.
Amniotic fluid cells : prenatal sex prediction and culture.
Brit.Med.J., I970, I, 523-526.

93 - NELSON M.M.
Fluorescent bodies in amniotic fluid cells.
Clin .Genet., I973, 4(3), 252-255.

94 - OGITA S., HASEGAWA H., MATSUMOTO M., KAMEL T., SUGAWA T.
Prenatal diagnosis of genetic anomalies by placental puncture.
Obstet. Gynec., I974, 43(5), 709-7I2.

95 - OGITA S., HASEGAWA H., MATSUMOTO M., KAMEL T., SHIMAMOTO T.
Prenatal diagnosis of E trisomy syndrome by foetography.
Obstet . Gynecol., I974, 43 (6), 887-892.

96 - PEARSON P.L., BOBROW M., VOSA C.G.
Technique for identifying Y chromosomes in human interphase nuclei.
Nature (London), I970, 226/5240, 78-80.

97 - PERRY T.B.
Error in prenatal sex determin ation.
Lancet, I973, I, 37I.

98 - POLANI P.E.
Prenatal cytological recognition of sex linked and chromosomal abnormalities.
J. Obstet. Gynec. Brit. Common W., I97I, 78/II, I024-I030.

99 - POLANI P.E.
Antenatal diagnosis.
J. Clin. Pathol. ,I972, 25 (11), I008-I009.

I00 - PRESCOTT G.H., PERNOLL M.L., HECHT F., NICHOLAS A.
A prenatal diagnosis clinic : An initial report.
Am.J.Obst.Gynec. , I973, II6, 942-948.

I0I - QUAYLE S.
Prenatal diagnosis from uncultured amniotic fluid cells.
Lancet, I972, I, 265.

I02 - QUEENAN J.T.
Intrauterine diagnosis of Down's syndrome.
Ann.N.Y. Acad.Sci., I97I, I7I/2, 6I7-626.

I03 - RANDLE G.H., CUMBERBATCH K.N.
Alpha fetoprotein levels in amniotic fluid in normal pregnancy and in pregnancy complicated by anencephaly.
J.Obst.Gyn.Brit.Common W., I973., 80, I054-I058.

I04 - RAVINA J.H.
La détection précoce des anomalies ovulaires. Nouvelles possibilités en obstétrique.
Nouv. Presse Med., I973, 2(46), 3085-3087.

I05 - RIIS P., FUCHS F.
Antenatal determination of foetal sex in prevention of hereditary diseases.
Lancet, I960, 2, I80.

I06 - ROBINSON A., BOWES W., DROEGEMUELLER W., PUCK M., GOODMAN S., SHIKES R., CREESHUR A.
Intruterine diagnosis.Potential complications.
Am.J.Obst.Gynec., I973, II6, 937-94I.

I07 - ROOK A., HSU L.Y.F., GERTNER M., HIRSCHORN K.
Identification of Y and X chromosomes in amniotic fluid cells.
Nature (London), I97I, 230 (5288), 53-55.

I08 - SEABRIGHT M.
A rapid banding technique for human chromosomes.
Lancet, I97I, II, 97I.

I09 - SERR D.M., SACHS L., DANON M.
Diagnosis of sex before birth using cells from amniotic fluid.
Bull. Res. Coun. Is rael ., I955, 5I3, I37-I38.

II0 - SERR D.M., MARCOLIS E.
Diagnosis of fetal sex in a sex linked hereditary disorder.
Amer.J.Obstet. Gynec., I964, 88, 230-232.

III - SHETTLES C.B.
Nuclear morphology of cells in human amniotic fluid in relation to sex of infants.
Am.J. Obstet.Gynec., I956, 7I,834.

II2 - SINHA R., CARLTON M.
The volume and composition of amniotic fluid in early pregnancy.
J. Obstet.Gynec. Brit. Common W., I970, 77/3, 2II-2I4.

II3 - STEELE M.W., BREG W.R.
Chromosome analysis of human amniotic fluid cells.
Lancet, I966, I,383.

II4 - STEIN Z., SUSSER M., GUTERMAN A.V.
Screening programe for prevention of Down's syndrome.
Lancet, I973, I(798), 305-3I0.

II5 - STEIN Z., POLKES A.V.
The prevention of Down's syndrome.
Ann.Clin. Res., I973, 5(2), 65-67.

II6 - THERKELSEN A.J. and al.
Prenatal diagnosis of chromosome abnormalities.
Acta Paediatr.Scand., I972, 6I, 397-404.

II7 - THIEDE H.A., CREASMAN W.I., METCALFE S.
Antenatal analysis of the human chromosomes.
Amer.J. Obstet.Gynec ., I966, 94, 589.

II8 - TJIO J.H., LEVAN A.
The chromosome number of man.
Hereditas , I956, 42, I-6.

II9 - TURNBULL A.C., GREGORY P.J., LAURENCE K.M.
Antenatal diagnosis of fetal abnormality with special reference to amniocentesis.
Proc. R. Soc. Med., I973, 66(II), III5-III8.

I20 - VALENTI C., SCHUTTA E.J., KEHATY T.
Prenatal diagnosis of Down's syndrome.
Lancet, I968, 2, 220.

I2I - VALENTI C., KEHATY T.
Culture of cells obtained by amniocentesis.
J. lab.Clin.Med., I969, 73, 355-358.

I22 - VALENTI C., SCHUTTA E.F., KEHATY T.
Cytogenetic diagnosis of Down's syndrome in utero.
JAMA., I969, 207, I5I3-I5I5.

I23 - WAGNER G., FUCHS F.
Volume of amniotic fluid in the first half of human pregnancy.
J. Obstet. Gynec.Brit.Common W., I962, 59, I3I.

I24 - WELT S.I.
Antenatal diagnosis via amniocentesis.
Am.J.Obstet.Gynec., I973, II7(8), II49.

I25 - ZELLWEGER .
Is routine prenatal karyotyping indicated in pregnancies of very young women.
J. Pediatr.., I973, 82, 675-677.

I26 - Physician responsability and prenatal genetic studies.
N. Engl.J.Med., I973, 288(26), I4I2-I4I3.

I27 - Hereditary disease can be diagnosed in fetal period.
J.Med.Assoc.State.Ala., I97I, 4I,433.

I28 - Paris Conférence (I97I) : Standardization in human cytogenetics.
Birth defects : Original articles series VIII, 7, I972, The National Foundation, New York.

Vu le Président de Thèse

Professeur B. SCHRAMM

Vu le Doyen de la Faculté de Médecine BROUSSAIS-HOTEL-DIEU

Professeur E. HOUSSET

Vu et permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris.

Monsieur R. MALLET